

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію

**ГОРКАВОЇ Ірини Миколаївни**

на тему: **«Вплив аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, на тканини колінного суглоба за остеоартрозу в кролів»**,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

*Актуальність теми дисертації.* Дегенеративно-дистрофічне захворювання синовіальних суглобів або остеоартроз – це поширене захворювання серед тварин, яке характеризується прогресуючими морфологічними змінами, що викликає значні функціональні порушення роботи структур суглоба. У хворих тварин спостерігаються: кульгавість, ригідність м'язів, небажання рухатися, труднощі у виконанні певної діяльності, швидка втомлюваність, хрускіт у ділянці суглоба під час руху, згодом відбувається деформація суглоба, що супроводжується больовим синдромом. Больовий стимул формується деполяризацією ноцицепторів унаслідок процесів місцевого запалення, який прямує спинно-таламічним шляхом до проміжного мозку і поширюється руховим нейроном, щоб викликати відчуття болю (Fernanda de Cássia Pereira Barros et al. 2022), тому постійний або поступово наростаючий біль призводить до кусання або облизування ураженого суглоба, викликає неспокій, безсоння. Сукупність цих ознак значно погіршує якість життя та змушує тварину постійно страждати.

Існує досить поширена думка, що остеоартроз – це прогресуюче захворювання, яке можна лише контролювати, а не вилікувати. Його мета – зняти дискомфорт і затримати розвиток дегенеративних змін.

Поширеність і наслідки остеоартрозу викликають значний інтерес до цього захворювання у широкого кола фахівців. Дослідження проблеми лікування остеоартрозу у своїй сукупності спрямовані на вирішення питань оптимізації регенераторної тактики та підвищення ефективності у менші терміни.

Зважаючи на це, вивчення застосування новітніх, сучасних терапевтичних методів PRP-технологій, а саме впливу аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, на тканини колінного суглоба за остеоартрозу в кролів є актуальним та вкрай необхідним.

*Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.*

Дисертація виконувалася впродовж 2020–2024 рр. у науково-дослідній лабораторії «Банк крові тварин» кафедри хірургії і патофізіології імені академіка І. О. Поваженка (нині – кафедра ветеринарної хірургії імені академіка

І. О. Поваженка) Національного університету біоресурсів і природокористування України як частина державної наукової тематики: «Науково-експериментальне дослідження механізму дії компонентів донорської крові у ветеринарній медицині за патологій різного генезу» (номер державної реєстрації 0122U001642, 2022–2023 рр.)

**Наукова новизна роботи.** Здобувачкою застосовано комплексний підхід щодо вивчення впливу аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, на тканини колінного суглоба за остеоартрозу в кролів.

Результати проведеного дослідження вказують на високу ефективність застосування аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, для стимуляції регенеративного процесу в тканинах колінного суглоба за остеоартрозу шляхом внутрішньосуглобового введення.

Внаслідок введення аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, тваринам з гонартрозом (остеоартроз колінного суглоба) вдалося значно покращити функціональні показники стану колінних суглобів у тварин, покращити показники біомаркерів запального процесу, а також забезпечити нормалізацію клітинного складу синовіальної рідини.

**Теоретичне та практичне значення одержаних результатів** полягає у розумінні впливу тромбоцитарних факторів росту на тканини суглоба за остеоартрозу та розширює можливості попередження прогресування дегенеративно-дистрофічних змін тканин суглоба, дозволяє знизити необхідність застосування хірургічних методів лікування та проводити лікування для тварин з протипоказаннями до інших методів.

Водночас, результати досліджень використовуються в практичній та науково-дослідній роботі кафедри ветеринарної хірургії імені академіка І. О. Поваженка Національного університету біоресурсів і природокористування України, в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Хвороби екзотичних та хутрових тварин» та «Хвороби собак і котів»; кафедри хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету, в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія» та «Хірургічні хвороби собак і котів»; кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія» та «Хірургічні хвороби дрібних домашніх тварин», кафедри хірургії та хвороб дрібних тварин Білоцерківського національного аграрного університету, в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія великих тварин» та «Травматологія і ортопедія дрібних домашніх тварин». Також результати досліджень

впроваджено у клінічну практику ветеринарної клініки «SHANTI» ФОП Панько О. М. (м. Київ).

**Структура роботи, обґрунтованість та достовірність результатів досліджень та висновків здобувачки.** Дисертація І. М. Горкавої написана українською мовою і відповідає чинним вимогам МОН України щодо дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії. Дисертація складається з анотації, вступу, чотирьох розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Загальний обсяг дисертації становить 242 сторінки, що містить 15 таблиць, 10 діаграм і 99 рисунків. Список використаних джерел містить 347 найменувань.

Назва дисертації повністю відповідає її змісту. Робота складається з анотацій українською та англійською мовами; списку опублікованих праць за темою дисертації; змісту; переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, вибору напрямів досліджень, матеріалу і методів виконання роботи; результатів власних досліджень; аналізу і узагальнення результатів досліджень; висновків; пропозицій виробництву; списку використаних джерел та додатків.

На початку наведені анотації (українською та англійською мовами) та список публікацій здобувачки (с. 2–21). Далі приведений зміст роботи (с. 22–23). Для зручності сприйняття термінології авторкою складено Перелік умовних позначень та скорочень (с. 24).

**Вступ** (с. 25–33) має характеристику наступних пунктів: обґрунтування вибору теми досліджень; зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами; мету і завдання досліджень із вказанням об'єкта дослідження, предмета дослідження та переліком використаних методів дослідження; наукову новизну отриманих результатів; практичне значення отриманих результатів; особистий внесок здобувачки; місце апробації основних результатів досліджень; характеристику публікацій авторки; структуру та обсяг дисертації.

**Розділ 1. Огляд літератури** (с. 34–54) займає 20 сторінок та розділений на сім підрозділів: 1.1. Остеоартроз у тварин (с. 34–41); 1.2. Остеоартроз у котів і собак (с. 41–44); 1.3. Остеоартроз у кролів (с. 44–45); 1.4. Остеоартрози у коней (с. 45–48); 1.5. Класичні методи лікування (с. 48–50); 1.6. Застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, за остеоартрозу в тварин (с. 50–53); 1.7. Висновок з огляду літератури (с. 53–54).

В даному розділі авторка описує сучасні знання про остеоартрози різних тварин, звертає увагу на класичні та новітні методи діагностики та лікування, ґрунтуючись на актуальних наукових джерелах. Авторка проводить аналіз досліджень вітчизняних та зарубіжних вчених, представляючи різні точки зору, теоретичні та практичні аспекти проблеми остеоартрозу, а також окреслює суперечливі чи не до кінця вивчені аспекти. Наприкінці розділу у висновку

підсумовані ключові моменти щодо особливості діагностики, реабілітації, проблеми вибору стратегій лікування остеоартрозу. Здобувачка демонструє ґрунтовне знання тематики дисертаційного дослідження, що підтверджується змістовністю, логічною структурою та обґрунтованістю висновку.

**Розділ 2. Матеріали та методи виконання роботи** (с. 55–62). Робота виконувалася впродовж 2020–2024 рр. на базі кафедри хірургії і патофізіології імені академіка І. О. Поваженка (нині – кафедра ветеринарної хірургії імені академіка І. О. Поваженка), рентгенологічні дослідження виконано на базі кафедри терапії і клінічної діагностики (нині – кафедра внутрішніх хвороб тварин), гістологічні дослідження проведено на базі кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин імені академіка В. Г. Касьяненка (нині – біоморфології хребетних імені академіка В. Г. Касьяненка) факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України. Експерименти з використанням лабораторних тварин проведено з дотриманням вимог «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах», схвалених I Національним конгресом з біоетики (20.09.2004 р., Київ, Україна) та положень «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Відомості ВР, 2010) та дозволу засідання локальної комісії Національного університету біоресурсів і природокористування України з питань біоетики згідно витягу з протоколу № 80-2 від 27 жовтня 2020 року.

Дисертаційне дослідження було виконано у три етапи. Під час I етапу було сформовано експериментальний остеоартроз у 12 дослідних тварин та проведено моніторинг його розвитку за різних термінів обстеження: 7, 14, 21, 28 дні після останньої внутрішньосуглобової ін'єкції препарату Yellow peel порівняно з 12 тваринами контрольної групи, яким вводили внутрішньосуглобово ізотонічний 0,9 % розчин NaCl за різних методів досліджень: клінічних, морфологічних, гістологічних та рентгенологічних. Під час II етапу 18 самцям кролів сформували експериментальний остеоартроз, розділили на три групи: контрольній групі лікування не проводили, одній дослідній групі проводили лікування за класичною схемою, а другій – за використання плазми, збагаченої тромбоцитами, з моніторингом репаративних процесів на 7, 14, 21, 28 дні після початку лікування за різних методів досліджень: клінічних, гематологічних, цитоморфологічних, гістологічних, рентгенологічних. III етап включав лікування собак з остеоартрозом (клінічні випадки) та моніторинг репаративних процесів за різних методів досліджень: клінічних, гематологічних, цитоморфологічних – крові, рентгенологічних.

Таким чином, чітко та логічно сформульовані етапи та використані ефективні та інформативні методи експериментального дослідження стали ключем до якісного виконання дисертації та вирішення поставлених завдань.

**Розділ 3. Результати власних досліджень** (с. 63–164) займає 101 сторінку. Дисертантка представила у цьому розділі змістовні та глибокі результати експериментальних досліджень. Матеріал поділено на шість підрозділів, п'ятий підрозділ містить один пункт та шостий – містить сім пунктів та два підпункти до шостого пункту. Така чітка структура етапів експерименту дозволила логічно викласти всі отримані дані відповідно до мети та завдань дисертації. Авторка зрозуміло й послідовно презентує інформацію, й завершує розділ висновком, який узагальнює всі викладені факти.

У підрозділі 3.1 «Визначення кількості лейкоцитів і їх субпопуляцій у крові кролів за остеоартрозу» (с. 63–66) дисертантка подає дослідження кількості лейкоцитів та їх субпопуляцій у крові кролів за експериментального остеоартрозу на 7, 14, 21, 28 добу експерименту, а також дослідження щодо вивчення швидкості осідання еритроцитів у кролів.

У підрозділі 3.2 «Дослідження вмісту С-реактивного білка у крові кролів за остеоартрозу» (с. 66–68) представлено дані оцінки рівня С-реактивного білка в сироватці крові кролів першої і другої дослідних груп на 7, 14, 21, 28 добу експерименту. Дослідження рівня С-реактивного білка в сироватці крові показало його корисне застосування як маркера для швидкої діагностики запальних захворювань.

Підрозділ 3.3 «Дослідження клітинного складу синовіальної рідини за остеоартрозу в кролів» (с. 68-72) включав відбір синовіальної рідини та цитологічні дослідження у кролів першої і другої дослідних груп на 7, 14, 21, 28 добу експерименту. У тварин контрольної групи цитологічні показники синовіальної рідини залишалися в межах референтних значень. Проте в дослідній групі був вищим рівень показників макрофагів в 17 разів і нейтрофілів в 49 разів, а поява клітин Тутона свідчила про незворотні дегенеративні процеси.

Підрозділ 3.4 «Рентгенологічні дослідження колінного суглоба за остеоартрозу в кролів» (с. 72–75) мав діагностичну мету та забезпечував моніторинг та оцінку поступово прогресуючих дегенеративних змін з втратою хряща в колінному суглобі на 7, 14, 21, 28 добу.

У підрозділі 3.5 «Гістологічні дослідження тканин колінного суглоба кролів за остеоартрозу» (с. 75–88) було встановлено, що мікроскопічна будова епіфізів стегнової і великогомілкової кісток була подібна до аналогічних тканин тварин інших видів, проте мали деякі особливості процесів остеогенезу. Широка зона енхондрального остеогенезу, яка в 3–5 разів була товстіша за суглобовий

хрящ, на думку авторки, забезпечувала більшу міцність епіфізів кісток за суттєвого навантаження під час стрибків.

Підрозділ 3.5 має пункт 3.5.1 «Гістологічні дослідження будови епіфізів стегнової і великогомілкової кісток, що утворюють колінний суглоб, за введення препарату Yellow peel.» (с. 88–105), у якому приведені дані щодо мікроскопічних змін за введення ретинолу ацетату в динаміці їх розвитку на 7, 14, 21, 28 добу. З'ясовано, що мікроскопічні зміни були подібними в епіфізах обох кісток та поширювався на усі нижче розташовані тканини епіфізів: значне руйнування суглобового хряща, частковий некроз і руйнування синовіальної оболонки суглоба, зникнення червоного кісткового мозку з відповідним припиненням кровотворення.

Підрозділ 3.6 «Лікування тварин з остеоартрозом» (с. 105–106), де обговорюється застосування як класичних методів лікування остеоартрозу (нестероїдні протизапальні препарати та харчові добавки хондроїтину з глюкозаміном), так й клітинних технологій, які активно використовують у багатьох клініках різних країн. Обґрунтовується вибір препаратів для традиційного лікування – карпрофен (препарат Рікарфа, KRKA d.d.) та харчова добавка в Chondro for cats, Canvit.

У пункті 3.6.1 «Вплив класичного методу лікування і плазми, збагаченої тромбоцитами, на клітинний склад синовіальної рідини колінного суглобів кролів за експериментального остеоартрозу» (с. 106–107) відмічалось покращення стану тварин на 14 добу за класичною схемою лікування, проте недоліками були розлади в роботі кишківника у вигляді діареї. У групі дослідних тварин за використання внутрішньосуглобового введення плазми, збагаченої тромбоцитами, покращення стану відмічалось на 3–7 добу. Проте, відсутні відомості щодо клітинного складу синовії.

У пункті 3.6.2 «Вплив класичного методу лікування і плазми, збагаченої тромбоцитами, на зміни кількості лейкоцитів і їх субпопуляцій у крові кролів за експериментального остеоартрозу» (с. 107–113) показана динаміка змін інтенсивності запального процесу під час лікування на 7, 14, 21, 28 добу у трьох групах тварин. На 28 добу лікування в контрольній групі тварин запальний процес знаходився на хронічній стадії, у дослідній групі тварин з класичною схемою рівень лейкоцитів відповідав референтним значенням, у другій дослідній групі тварин рівень лейкоцитів відповідав референтним значенням вже на 21 добу лікування. Також було проведено дослідження динаміки ШОЕ на 7, 14, 21, 28 добу експерименту, яке показало у тварин контрольної групи незначне зниження показників, що вказує на важкість системного запального процесу, у першій дослідній групі тварин стале зниження показників референтних значень на 21 добу, а у другій дослідній групі – вже на 14 добу.

У пункті 3.6.3 «Вміст С-реактивного білка у крові кролів за експериментального остеоартрозу під час лікування класичним методом і плазмою, збагаченою тромбоцитами» (с. 113–115) приведені дані, що на 28 добу експерименту вміст С-реактивного білку в сироватці крові кролів контрольної групи все ще залишався майже сталим 12,5 мкг/мл, у тварин з класичною схемою лікування показник знижався до майже референтних значень на 21 добу, у кролів другої дослідної групи показник СРБ набув референтних значень на 14 добу.

Назва пункту 3.6.4 «Клітинний склад синовіальної рідини у кролів за остеоартрозу під час лікування класичним методом і плазмою, збагаченою тромбоцитами» (с. 115–121) майже співпадає з пунктом 3.6.1. Встановлена динаміка показників та клітинного складу синовії на 7, 14, 21, 28 добу лікування: у контрольній групі на 28 добу відмічалася кульгавість та знижена активність, що свідчило про хронічну стадію запалення із подальшим руйнуванням хрящової тканини, у тварин дослідної групи відбувся перехід запального процесу у стан ремісії, у тварин другої дослідної групи вже на 21 добу зникав запальний процес та переходив в стадію ремісії.

Пункт 3.6.5 «Рентгенологічні дослідження колінного суглоба кролів за остеоартрозу під час лікування класичним методом і плазмою, збагаченою тромбоцитами» (с. 122–127) – на 28 добу терапії у тварин з класичною схемою лікування відмічали зниження висоти суглобової щілини рівномірно з обох боків, дегенеративні зміни в субхондральній ділянці великогомілкової кістки, відсутній параартикулярних м'яких тканинах, з використанням PRP – зниження висоти суглобової щілини рівномірно з обох боків, дегенеративні зміни слабше виражені, відсутній набряк параартикулярних м'яких тканин.

Пункт 3.6.6 «Гістологічні дослідження колінного суглоба кролів за остеоартрозу під час лікування класичним методом і плазмою, збагаченою тромбоцитами» (с. 127–155).

Підпункт 3.6.6.1 «Гістологічна характеристика епіфізів стегнової і великогомілкової кісток, що утворюють колінний суглоб, при застосуванні класичної схеми лікування» (с. 127–142) – на 28 добу традиційного лікування епіфізи стегнової і великогомілкової кісток були вже досить добре відновлені, проте процеси регенерація ще не досягла свого закінчення у епіфізарній пластинці, кістковій тканині губчастої кістки, розташованої між епіфізарною пластинкою та діафізом, у червоному кістковому мозку реєструвалося гіперергічне кровотворення.

Підпункт 3.6.6.2 «Гістологічна характеристика епіфізів стегнової і великогомілкової кісток, що утворюють колінний суглоб, при застосуванні плазми, збагаченої тромбоцитами» (с. 142–155) – інтенсифікація остеогенезу

відбувалася у самі ранні терміни PRP-терапії – на 1–3 добу. Проте нормалізація мікроскопічної будови червоного кісткового мозку в усіх відділах діяфізу свідчила про припинення гіперергічного кровотворення та повернення до нормального функціонування на 21 добу. Епіфізарна пластинка і червоний кістковий мозок губчастої кістки, розташованої між епіфізарною пластинкою і діяфізом, вже набували характерної мікроскопічної будови на 21 добу, а за традиційного методу лікування повне відновлення епіфізарної пластинки ще не наставало на 28 день спостережень. На 28 добу PRP-терапії суглобовий хрящ, мав характерну мікроскопічну будову, не змінені хондробласти, хондроцити та матрикс.

Пункт 3.6.7 «Клінічні випадки лікування собак з остеоартрозом колінного суглоба за використання плазми, збагаченої тромбоцитами» (с. 155–164). Було обрано п'ять собак з підозрою на остеоартроз колінного суглоба для проведення лікування патології з використанням плазми, збагаченої тромбоцитами. I – алабай, 3 роки, самець, 60 кг; II – басенджи, 10 років, самець, 10 кг; III – стаффордширський тер'єр, 13 років, самець, 25 кг; IV – лабрадор, 11 років, самець, 30 кг; V – кане корсо, 10 років, самець, 45 кг – причина звернення – кульгавість і скутість рухів. Після курсу лікування – трьох процедур внутрішньосуглобового введення з індивідуальною дозою – одне введення аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами, вже на 7 добу після завершення курсу було відмічено в усіх пацієнтів: підвищену активність, відсутність кульгавості. На 90 добу відмічали достовірне зниження швидкості осідання еритроцитів на 71,3 % і вмісту С-реактивного білка на 93,5 % відносно вихідного стану. На рентгенологічному знімку через 3 місяці відсутні подальші дегенеративні зміни.

Отже, авторка провела ґрунтовні дослідження й представила їх у розділі Результати власних досліджень, які глибоко та чітко розкривають суть дисертації та її ключові моменти. Матеріал оформлено на високому професійному рівні, а виклад характеризується науковою точністю. Розділ містить достатню кількість високоякісного ілюстративного матеріалу (мікрофотографії, рентгенологічні знімки, таблиці та діаграми), які наочно підтверджують достовірність отриманих результатів.

**Розділ 4. Аналіз і узагальнення результатів досліджень** (с. 165–181). Цей розділ присвячено детальному розгляду та інтерпретації результатів власних досліджень. Авторка не лише узагальнює свої результати, але й проводить порівняння з результатами інших науковців, визначаючи їхню новизну та цінність. Крім того, авторка підкреслює зв'язок своєї роботи з попередніми дослідженнями в цій галузі. Для кращого розуміння матеріалу авторка використовує візуалізовану узагальнюючу діаграму.



**Висновки** (с. 182–184). На основі узагальнень, авторкою сформульовано комплексний висновок дисертації, який розширюється та доповнюється дев'ятьма конкретними висновками. Висновки чітко відповідають завданням дослідження.

**Пропозиції виробництву** (с. 185) сформовані трьома пунктами: у першому пропонуються результати роботи для використання у науковій роботі та у навчальному процесі при підготовці фахівців із спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»; другий – під час використання аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, пропонується керуватися двома методичними рекомендаціями; третій – використання у клінічній ветеринарній практиці, як один із методів лікування тварин з остеоартрозом.

**Список використаних джерел** (с. 186–233) містить 347 найменувань. Представлена література є сучасною та відповідає напряду дослідження дисертації.

**Додатки** (с. 234–246). Дисертація доповнена 7 додатками. Вони представлені списком опублікованих праць за темою дисертації, актами і довідками про використання результатів дисертації у навчальному процесі та наукові дослідження на кафедрах закладів вищої освіти та у ветеринарну практику клінік дрібних домашніх тварин України, відомостями про апробацію результатів дисертації.

Отже, дисертація є завершеною науковою працею відповідно до поставленої мети та завдань, містить нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачкою досліджень, які виконують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для галузі знань 21 «Ветеринарна медицина». Робота виконана чітким, послідовним та зрозумілим науковим стилем. Дисертантка вільно володіє та інтерпретує матеріал, що показує її високу фахову обізнаність в досліджуваній тематиці.

**Апробація результатів досліджень, повнота їх викладення в опублікованих працях, достовірність і обґрунтованість наукових положень, висновків, рекомендацій.** Матеріали дисертації доповідалися й обговорювалися на п'яти міжнародних наукових та науково-практичних конференціях та одержали позитивні відгуки на: Міжнародній науковій конференції «Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття 2021» (м. Київ, 11 листопада 2021 р.); Міжнародній науковій конференції «Єдине здоров'я – 2022» (м. Київ, 22–24 вересня 2022 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання науки, освіти і суспільства» (м. Умань, 28 жовтня 2022 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти» (м. Одеса, 8–9 грудня 2022 р.); Міжнародній науково-

практичній конференції науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції» (м. Одеса, 14–15 вересня 2023 р.).

За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць, зокрема 4 статті у виданнях, що включені до переліку фахових видань України, 5 тез доповідей на наукових конференціях, 2 науково-практичні рекомендації.

Дисертація є завершеним науковим дослідженням. Наукові положення, висновки і рекомендації, які виносяться до захисту, отримано самостійно та оприлюднено в наукових працях здобувачки.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано лише ті ідеї і положення, що є результатом особистих досліджень авторки.

**Відомості щодо проходження біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.** Здобувачка Горкава Ірина Миколаївна виконувала наукові дослідження на базі кафедри ветеринарної хірургії імені академіка І. О. Поваженка, рентгенологічні дослідження виконано на базі кафедри внутрішніх хвороб тварин, гістологічні дослідження проведено на базі кафедри біоморфології хребетних імені академіка В. Г. Касьяненка факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природо-користування України.

Авторка проводила експериментальні дослідження «Вплив плазми збагаченої тромбоцитами на тканини суглобу за експериментального остеоартрозу» відповідно етичним принципам і нормам біоетики запланованих досліджень (випробувань) із використанням тварин згідно з дозволом протоколу № 80-2 від 27 жовтня 2020 року засідання локальної комісії Національного університету біоресурсів і природо-користування України з питань біоетики.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дослідження проведено дисертанткою на високому науково-методичному рівні. Мета і завдання роботи мають логічне узгодження з детальним аналізом сучасного стану проблеми щодо переваг впливу аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, на тканини колінного суглоба за остеоартрозу в кролів у порівнянні з іншими матеріалами. Здобувачка методологічно вірно провела дослідження з використанням низки сучасних та класичних високоінформативних методів досліджень: клінічні, рентгенологічні, гістологічні (гістоструктура тканин суглоба), цитологічні (дослідження клітинного складу синовіальної рідини), морфологічні дослідження крові (дослідження кількості лейкоцитів і їх субпопуляцій), біохімічні дослідження крові (дослідження С-реактивного білку), фізико-хімічні показники (швидкість осідання еритроцитів), статистичні.

Мета роботи досягнута, її результати відповідають завданням, сформульовані наукові положення належною мірою обґрунтовані та достатньо апробовані.

Висновки логічні, узгоджуються із поставленими завданнями і витікають із результатів проведених дисертанткою досліджень, достовірність яких підтверджується наведеним в дисертації табличним, графічним, якісним фотографічним матеріалом рентгенограм, мікропрепаратів та результатами статистичної обробки даних. Представлені методичні рекомендації та науково-практичне видання підтверджують значення роботи та вказують на можливість використання їх результатів в навчальній роботі, науковій та практичній клінічній діяльності працівників ветеринарної медицини.

**Особистий внесок дисертанта у вирішенні конкретного наукового завдання.** Здобувачкою самостійно виконано весь обсяг клініко-експериментальних досліджень, проведено статистичне оброблення одержаних результатів, аналіз та узагальнення їх. Клінічні, цитологічні та біохімічні дослідження виконано в лабораторії кафедри ветеринарної хірургії імені академіка І. О. Поваженка, рентгенологічні дослідження виконано на базі кафедри внутрішніх хвороб тварин, гістологічні дослідження проведено на базі кафедри біоморфології хребетних імені академіка В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України.

**Дискусійні, критичні зауваження та запитання до здобувачки.** Позитивно оцінюючи дисертацію та одержані результати, варто вказати на виявлені недоліки, задати уточнюючі запитання та висловити певні побажання:

1. В роботі використовується термін «тромбоцити», але морфологічно – це кров'яні пластинки. Проте в перекладі англійською мовою «platelet-rich plasma» звучить як пластинки, а не тромбоцити. Тромбоцити та кров'яні пластинки – чи ідентичні ці структури?

2. Чим відрізняються псевдоеозинофіли та еозинофіли у кролів?

3. с. 39 «Суглобова щілина – це область» – коректний анатомічний термін – ділянка.

4. с. 70, рис. 3.4 – сумнівна клітина – псевдоеозинофіл; рис. 3.5 – під цифрою 4 – сумнівний еозинофіл (розміри, ядро та колір зернистості). Якісну цитологічну інтерпретацію прийнято проводити за імерсійного дослідження та 1000-кратного збільшення.

5. с. 75 «Суглобовий хрящ епіфізів обох кісток являв собою гіаліновий хрящ типової мікроскопічної будови. З боку порожнини суглоба він вкритий охрястям». Загальновідомо, що гіалінова суглобова хрящова тканина не є типовим гіаліновим хрящем та не вкрита охрястям. На гістологічних

препаратах в роботі це чітко візуалізується. Проте в роботі часто згадується охрястя та його участь у регенерації. Прошу прокоментувати.

6. с. 76, рис. 3.11 стрілка позначення б не вказує на остеоцити.

7. с. 77, рис. 3.12 «Нижче (відносно порожнини суглоба) зони енхондрального остеогенезу знаходилась вузька смужка незрілої кісткової тканини, матрикс якої був трохи базофільним» – більш коректний гістологічний термін – слабо базофільним.

8. с. 77 «Тут же виявлялись молоді остеоцити, які походили від хондроцитів гіалінового хряща...». На які дані Ви спиралися, коли стверджували, що молоді остеоцити походили від хондроцитів?

9. с. 77 «В цій тканині знаходились остеоцити, які походили від зрілих хондроцитів». На Вашу думку зрілі хондроцити – це які?

10. с. 78 «Це свідчило, що в даній ділянці епіфізів кісток, які утворюють колінний суглоб, відбуваються як процеси енхондрального остеогенезу, так і процеси інтрамембранозного остеогенезу, який забезпечується остеобластами, що утворюються в вічках кісткової тканини зі стовбурових клітин». Чим відрізняються енхондральний та інтрамембранозний остеогенези? Чим обумовлена їх присутність у даному випадку?

11. с. 78 «...губчастою кістковою тканиною...». В роботі використовується не коректна термінологія щодо кісткової тканини та кісток: «губчаста кістка, губчаста кісткова тканина». За Міжнародною гістологічною номенклатурою є два типи кісткової тканини – грубоволокниста (ретикулофіброзна) та пластинчаста, а пластинчаста має два різновиди речовини (субстанції): губчасту та компактну.

12. рис. 3.11 знаходиться на с. 76, а його опис на с. 78. рис. 3.16 – на с. 80, а опис – на с. 78. За правилами оформлення дисертацій опис має бути після рисунку або наступної сторінки.

13. с. 80, рис. 3.16 заявлена цифра 4 – відсутня на рисунку; «...трубчастої кістки діафіза», с. 85 – «...компактної кістки діафізу...» – що означають ці вирази?

14. с. 80 «На периферії епіфізарної пластинки хондроцити починали продукувати матрикс кісткової тканини, замурувалися у нього і перетворювалися на молоді остеоцити, які за морфологією ще були досить подібними до хондроцитів». Загальновідомо, що матрикс кісткової тканини продукують остеобласти, вони ж й замуруються в нього, диференціюючись на остеоцити.

15. с. 81 «Поряд з цим, у вічках губчастої кісткової тканини, що були розташовані біля епіфізарної пластинки, реєструвався інтенсивний інтрамембранозний остеогенез, морфологічним проявом якого була велика

кількість щільно розташованих, місцями в 2 ряди, остеобластів (рис. 3.19)». Морфологічними проявом інтрамембранозного (первинного) остеогенезу є утворення ретикулофіброзної кісткової тканини, а велика кількість щільно розташованих остеобластів є результатом їх мітотичного поділу за ремодулювання.

16. с. 82, рис. 3.19 «3 – хондроцит, який замурується в молоду губчасту кісткову тканину, розташовану під суглобовим хрящем; 4 – хондроцит у молодій губчастій кістковій тканині». На рисунку чітко помітно, що 3 – хондроцит контактує з кістковим матриксом, але не замурується; 4 – не коректно стверджувати, що це хондроцит.

17. с. 82 «Преостеобласти являли собою витягнуті вздовж поверхні хрящової тканини клітини з великими, інтенсивно зафарбованими гематоксиліном ядрами і невеликим об'ємом цитоплазми...» (рис. 3.20, 3.21). Преостеобластів на даних рисунках не позначено.

18. с. 94 «...губчастої кісткової тканини, розташованої між суглобовим хрящем і епіфізарною пластинкою...» – доцільно використати термін субхондральна частина кістки.

19. с. 103–105 «У губчастій кістковій тканині, розташованій між суглобовим хрящем і епіфізарною пластинкою, виявлялись порушення, а потім і припинення як енхондрального, так і інтрамембранозного остеогенезу. Поряд з цим тут зникав червоний кістковий мозок з відповідним припиненням кровотворення в цій ділянці кістки. У епіфізарній пластинці значно порушувався енхондральний остеогенез кісткової тканини, розташованій між суглобовим хрящем і епіфізарною пластинкою. У той же час порушення остеогенезу в напрямку діяфізу стегнової і великогомілкової кісток було незначним. Проте в кінці досліді нами було встановлено зникнення червоного кісткового мозку з відповідним припиненням кровотворення і в губчастій кістковій тканині між епіфізарною пластинкою і діяфізом» – послідовно розташовані два ідентичних абзаци.

20. с. 105, рис. 3.43 – не коректно стверджувати про відсутність кровотворних клітин за 100-кратного збільшення.

21. с. 106–107, пункт 3.6.1 «Вплив класичного методу лікування і плазми, збагаченої тромбоцитами, на клітинний склад синовіальної рідини колінного суглобів кролів за експериментального остеоартрозу» – заявлена назва не зовсім відповідає змісту – про клітинний склад синовії не згадується.

22. с. 110, 111 – «У дослідній групі тварин з класичною схемою відмічено, що рівень лейкоцитів, нейтрофілів, базофілів, лімфоцитів, еозинофілів та моноцитів відповідають референтним значенням» – лейкоцити та їх види перелічені через кому замість двокрапки.

23. с. 115, пункт 3.6.4 «Клітинний склад синовіальної рідини у кролів за остеоартрозу під час лікування класичним методом і плазмою, збагаченою тромбоцитами» – назва майже співпадає з пунктом 3.6.1.

24. с. 142, 144 «...велика кількість хондроцитів одночасно замурувалася у кістковий матрикс, перетворюючись на остецити (рис. 3.73)» – щоб замуруватися в кістковий матрикс його потрібно синтезувати, хондроцити до цього не здатні, цю роль виконують остеобласти; «1 – інтенсивне матриксу хондроцитами ізогенної групи» – не зрозуміле позначення; стрілки від цифр 2 та 3 не позначають заявлені клітини; остецит має іншу морфологію.

25. с. 150, рис. 3.80 позначення «2 – інтрамембранозний остеогенез» проте на рисунку ядра остеобластів.

26. с. 150 «Також реєструвалась активна проліферація фібробластів (рис. 3.82)» – на рисунку не візуалізуються фібробласти.

27. с. 153, рис. 3.86 – відсутні в позначеннях пояснення номерів 3 та 4.

28. с.154, рис. 3.87 – під номером 1 не візуалізується охрястя, також на рисунку присутня не позначена стрілка.

29. Витяг з протоколу № 80-2 від 27 жовтня 2020 року засідання локальної комісії НУБіП України з питань біоетики доцільно було б розмістити у додатках.

В тексті трапляються деякі граматичні, пунктуаційні та стилістичні помилки, наприклад:

с. 3 «За гістологічного дослідження спостерігали мікроскопічні зміни в епіфізах обох кісток посилювались на 14 добу»;

с. 18 «тези доповіді. Одесо, 2022»; «рідини за експериментально остеоартрозу»;

с. 25 «синовіальна оболонка запалюється, продукую синовіальну рідину (SF)»;

с. 34 «Суглобовий хрящ представляє собою» вирази «представляє собою, являє собою» «являється» – русизми, які доцільно замінити на «є»;

с. 34, 36 «роль „ амортизатора „; ( гіалуринова кислота ) синтезуються синовіоцитами» – лапки та дужки з пробілами;

с. 39 «Суглобова щілина – це область непрозорості м'яких тканин між поверхнями субхондральної кістки протилежних поверхонь суглоба, що несуть вагу» – використовується термін «ділянка» замість «область», двічі у реченні звучить «поверхонь та поверхнями», несуть навантаження, а не «вагу»;

с. 41, 50 «які отримали запальні подразники, становить 4–6 годин. ...діаметром 2–4 мкм. У кровоносному руслі вони циркулюють близько 9–11 діб» – замість дефісу тире;

с. 46 «Ветеринар вивчає конформацію, баланс і вагу, а також виявить будь-які ознаки травми або стресу» – потрібно «виявляє»;

- с. 57 «Клінічні, морфологічні дослідження крові, , гістологічні» – зайва кома;
- с. 134, рис. 3.62 – відсутня заявлена цифра 3 на рисунку;
- с. 140 «...інтенсивний інтрамембранозний остеогенез...» пропущена літера «б» – інтрамембранозний;
- с. 156 «незначне збільшення суглобової зілини» – «щілини»;
- с. 169 «...на протязі всього дослідження...» – більш доречно – «впродовж»;
- с. 183 висновок 5 «...тканин меш виражений порівняно з...» – пропущена буква – «менш».

**Загальний висновок на дисертацію.** Враховуючи актуальність обраної теми, аргументованість мети досліджень та її завдань, використання ефективних методів досліджень, наукову новизну та вірогідність отриманих результатів, обґрунтованість висновків і пропозицій, подана до захисту дисертація Горкавої Ірини Миколаївни на тему: «Вплив аутологічної плазми крові, збагаченої тромбоцитами, на тканини колінного суглоба за остеоартрозу в кролів» є завершеною науковою працею, яка має вагоме теоретичне і практичне значення для ветеринарної медицини.

Дисертація оформлена відповідно до наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31 травня 2019 року) та повністю відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року).

На основі вищевикладеного вважаю, що здобувачка Горкава Ірина Миколаївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

**Офіційний опонент доцент кафедри анатомії та гістології імені П. О. Ковальського Білоцерківського національного аграрного університету, кандидат ветеринарних наук Ольга БЕВЗ**