

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертацію Свідко Катерини Миколаївни
"Компенсація лімбальної недостатності рогівки кріоконсервованими
ядровмісними клітинами кордової крові людини" подану до
спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і
кріомедицини НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за спеціальністю 14-01-35 – кріомедицина**

1. Актуальність теми. Робота, яка виконана Свідко К.М. відноситься до актуального напрямку сучасної кріомедицини – обґрунтуванню можливості застосування кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини (кЯКККЛ) для відновлення структурно-функціонального статусу і корекції рогівки в експериментальній моделі лімбальної недостатності рогівки (ЛНР). Найбільш частим проявом патології епітелію рогівки є кератити, птерігіум, сімблефарон, епітеліальні дистрофії. При тривалій відсутності епітеліального покриву в рогівці розвиваються метаболічні порушення, що призводить до розвитку різноманітних за клінічним проявом патологічних станів. Дані патологічні зміни можуть бути поділені на дві категорії. Перша категорія характеризується пошкодженням камбіальних клітин, що може спостерігатися при хімічному або термічному опіку легкої або середньої тяжкості, при синдромі Stevens-Johnson, тривалому носінні контактних лінз, дії ультрафіолетових променів. Для другої категорії характерне руйнування безпосередньо морфологічної структури, на якій фіксовані стовбурові клітини. Даний патологічний стан може бути зумовлений різними кератитами, хірургічними операціями, що пошкоджують зону лімба, опіками важкого і особливо тяжкого ступеня. Всі ці захворювання супроводжуються ЛНР. Рішення медико-соціальних проблем, викликаних патологічними змінами з боку переднього відділу органу зору, можливо за рахунок розробки та впровадження комплексу лікувальних і реабілітаційних заходів, основу яких представляють патогенетично обґрунтовані методи. Традиційно, залежно від ступеня вираженості патологічних змін, виконуються хірургічні операції, спрямовані на заміщення втрачених стовбурових клітин, або хірургічні втручання, що створюють умови для повноцінної регенерації власних тканин. Як правило, виконується ауто- або алотрансплантація біологічних тканин. Та, на жаль ці методи потребують від хірурга певних навичок та часто супроводжуються ускладненнями, також є необхідність у донорському матеріалі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках тематичного плану Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за темою: "Вивчити механізм регенераційних процесів шляхом дослідження структурних і деяких метаболічних показників організму експериментальних тварин після трансплантації плаценти в умовах атеросклерозу" (№ держреєстрації 0106U002170).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі забезпечується:

- робота ґрунтується на значному за обсягом експериментальному матеріалі, виконана на високому науковому та методичному рівнях;
- достатнім обсягом даних, отриманих в ході проведення вивчення патогенезу ЛНР;
- застосуванням сучасних методів досліджень;
- використанням адекватних статистичних методів для обробки і аналізу результатів досліджень.

3. Наукова новизна результатів дослідження.

Вперше показана можливість використання кЯКККЛ для лікування і розшифровки механізму дії в умовах розвитку експериментальної ЛНР, доведена ефективність даного методу в порівнянні з традиційною терапією.

Вперше досліджено і встановлено факт позитивного впливу кЯКККЛ на Т-клітинну ланку імунітету, характер накопичення ростових факторів у тканинах ока тварин та ІФН- α і ІФН- γ у слюзовій рідині та крові, показники крові, клінічний перебіг, репарацію рогівки при експериментальній ЛНР у кроликів. Також доведено, що при внутрішньостромальному введенні кЯКККЛ відновлюються функція і структура рогівки, швидше відбуваються реабілітація та регрес запального процесу у тварин з експериментальною ЛНР.

4. Повнота викладу наукових положень в опублікованих роботах.

За результатами дисертації опубліковано 10 наукових праць, із яких 7 статей у провідних фахових виданнях, 3 тези конференцій. Отримано патент на винахід.

Основні положення дисертаційної роботи представлено та обговорено на наступних наукових форумах: щорічній конференції молодих учених "Холод у біології та медицині" (Харків, 2011, 2015), науковій конференції "Biological and clinical aspects of the use of somatic cells in regenerative medicine" (Вроцлав, Польща).

Всі статі, опубліковані за темою дисертаційної роботи, структуровані за наступним принципом і містять вступ, аналіз останніх публікацій за темою дослідження, мету, опис матеріалу та методів дослідження, виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших робіт у даному напрямку.

5. Теоретичне значення одержаних результатів полягає в тому, що Свідко К.М. провела теоретичний аналіз сучасних поглядів на патогенез ЛНР, способи консервативного і хірургічного лікування, використання клітинної терапії в офтальмології, та при розвитку ЛНР.

6. Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень є обґрунтуванням перспективності застосування кЯКККЛ в клінічній практиці для корекції ЛНР і вказують на необхідність проведення подальших клінічних випробувань. Завдяки низькій імуногенності та за

наявності матеріалу в низькотемпературних банках даний метод дозволить своєчасно і в повному обсязі надавати необхідну допомогу пацієнтам із ЛНР.

7. Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність у цілому.

Робота відповідає вимогам, встановленим ВАК України до кандидатських дисертацій, ґрунтується на досягненнях кріобіології, теоретичної та експериментальної медицини. Тема дисертаційної роботи відповідає науковим напрямкам, що затверджені для інституту Президією НАН України.

Дисертація побудована по класичному типу і включає: вступ, огляд літератури, розділ "Матеріали і методи дослідження", трьох розділів із описом результатів дослідження та їх обговоренням, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, який включає 264 джерела на 28 сторінках. Загальний об'єм роботи складає 147 сторінок, з яких 116 сторінок основного змісту

У розділі "Вступ" (5 стр) автор обґрунтовує актуальність роботи, демонструє зв'язок власних досліджень з роботами інших авторів та наводить всі необхідні дані, умови її виконання.

У розділі 1 автор наводить основні дані наукової літератури, щодо використання кЯКККЛ при захворюваннях рогівки, описує сучасний погляд на таку патологію як ЛНР. Розділ викладено на 23 стр.

Розділ 2 "Матеріали і методи" (9 стр) містить опис методики заготовки та отримання кЯКККЛ, а також методів дослідження, які автор використала для виконання поставлених завдань.

Третій розділ (63 стр) присвячений власним дослідженням. Представлена розробка експериментальної моделі ЛНР у кроликів та обґрунтування можливості її застосування є актуальними. При виконанні даної експериментальної моделі не пошкоджується механічно зона лімба. Автором, Свідко К.М. модифікована модель, що дало змогу залишити третє око тварині та зменшити больові прояви. Також було доказано, що на поверхні рогівки формується помутніння та вростання судин, морфологічно підтверджено наявність кон'юнктивального епітелію. Мітоміцин С є цитостиком і тому доцільним було дослідити, через який час виведеться даний препарат та не вплине на ефективність застосування кЯКККЛ. Дану модель стало можливим застосовувати вже через 26,2 годин.

Метод введення та доза були обрані на основі клінічних даних. Інтрастромальне введення використовується у офтальмології і дозволяє досягнути максимальної концентрації стовбурових клітин у рогівці з ЛНР. Наведені дані про збереження кЯКККЛ після кріоконсервування свідчать про достовірність отриманих результатів. Детально викладені результати вивчення Т-клітинної ланки імунітету експериментальних тварин. В результаті проведених досліджень було встановлено, що вже на 3-ю добу після експериментальної ЛНР у тварин була порушена Т-клітинна ланка імунітету. Імунорегуляторний індекс перевищував контроль і був підвищеним як на 7-у добу, так і на 14-у добу. Отримані дані дали опис дії кЯКККЛ, як іммунокоректора.

Дуже важливим є дослідження характеру зміни вмісту цитокінів ІФН- α і ІФН- γ в сльозі і сироватці крові. Показана здатність кЯКККЛ нормалізувати показники цитокінів у сироватці крові та сльозі у тварин із експериментальною ЛНР: зниження вмісту ІФН- α і підвищення ІФН- γ . У крові та сльозі всіх тварин, яких лікували введенням кЯКККЛ, на тлі терапії показник ІФН- α вже до 7-ї доби практично досягав норми. При дослідженні вмісту ІФН- γ на 7-у добу спостерігали значуще його підвищення, а на 14-у добу – його відновлення.

Автор підтверджує вищезгадані властивості кЯКККЛ та детально описує клініку перебігу експериментальної ЛНР і під впливом введених ЯКККЛ, показники периферичної крові, морфологічні зміни рогики на етапі формування ЛНР і в процесі лікування.

Розділ 5 "Аналіз та узагальнення результатів дослідження" викладений на 10 стр. Найбільш обговорюваним питанням у сучасних дослідженнях є ефективність застосування саме стовбурових клітин та їх мікрооточення. За матеріалами дослідження Свідко К.М. було вперше виявлено, що більшого терапевтичного ефекту досягали в групі з введенням життєздатних кЯКККЛ. Але і при застосуванні нежиттєздатних кЯКККЛ були отримані хороші результати, що практично наближалися до вищевказаної групи. Тому можна зробити висновок, що обидві групи мають достатньо виражений терапевтичний ефект при лікуванні експериментальної ЛНР.

Висновки являють собою логічний наслідок аналізу проведених досліджень і цілком віддзеркалюють отримані дані та відповідають поставленим задачам дослідження.

Автореферат повністю відображає структуру дисертації та основний зміст роботи.

Практичні рекомендації аргументовані, чіткі, конкретні.

8. Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.

Дисертація відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

9. Недоліки дисертації щодо змісту та оформлення.

В цілому дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні.

Принципових недоліків у дисертації не виявлено, проте, є деякі зауваження:

1. В тексті дисертації зустрічаються граматичні та стилістичні помилки, на які вказано автору.

2. Таблиця 3.4.2. є зовнішньою та займає весь лист та містить багато інформації.

3. Деякі рисунки не зовсім чіткі, на що вказано автору.

4. В графіках необхідно вказувати рівень достовірності.

3. В списку робіт, опублікованих за темою дисертації автореферата перелік прізвищ авторів в квадратні дужки не береться.

Необхідно підкреслити, що вказані вище зауваження не носять принципового характеру і істотно не впливають на значущість отриманих

результатів.

У процесі рецензування дисертації виникли наступні питання:

1. За рахунок яких механізмів Ви спостерігали позитивний ефект від введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові?

2. Як математично підтверджувався Вами ефект застосування нежиттєздатних кЯКККЛ?

Відмічені недоліки не знижують загальної високої оцінки дисертації.

10. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.

Отримані Свідко К.М. експериментальні дані є достовірним підґрунтям для впровадження кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові в клінічні експерименти при ЛНР з метою підвищення ефективності лікування та мінімізації рецидивів.

11. Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Свідко Катерини Миколаївни "Компенсація лімбальної недостатності рогівки кріоконсервованими ядровмісними клітинами кордової крові людини" є кваліфікованою науковою працею, виконаною особисто здобувачем. Робота містить нове вирішення актуальної наукової задачі сучасної кріомедицини, пошуку нового агенту для лікування лімбальної недостатності рогівки. За актуальністю проблеми, використанням сучасних методів дослідження, обсягом вивченого матеріалу, достовірністю результатів, науковою новизною та практичною цінністю дисертація повністю відповідає вимогам пункту 11 "Порядку присудження наукових ступенів..." затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24 липня 2013 року за № 567 щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю **14.01.35 – кріомедицини**.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри гістології,

цитології та ембріології ВДНЗ України

"Українська медична стоматологічна академія"

доктор медичних наук, професор,

лауреат Державної премії України

в галузі науки і техніки

Шепітько В.І.

