

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Дьоміної Марії Юрїївни "Застосування кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти при лікуванні діабетичної ретинопатії (експериментальне дослідження)" " 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 дослідження.** Цукровий діабет залишається медико-соціальною проблемою 21 сторіччя, яка обумовлена пандемічним характером розповсюдженості захворювання та високим ризиком інвалідизації й смертності. Діабетична ретинопатія є найбільш розповсюдженим ускладненням цукрового діабету та однією з головних причин втрати зору серед працездатних осіб. Це прогресуюче захворювання, яке характеризується мікросудинними змінами, що призводять до ішемії, збільшення проникності судинної стінки, неоваскуляризації сітківки та макулярного набряку і як наслідок погіршення і втрату зору, а тому є важливою соціальною проблемою сучасної офтальмології.

На сьогоднішній день існує дуже багато способів лікування діабетичної ретинопатії але усі вони мають свої недоліки та в багатьох випадках малоефективні. Тому активно йдуть пошуки нових підходів до лікування та профілактики таких пацієнтів.

В останній час в регенеративній медицині інтенсивно розвивається новий напрямок – застосування біопрепаратів із тканин і клітин фетоплацентарного комплексу. В теперішній час успіхи трансплантології відзначаються досягненнями сучасної кріобіології, яка розробляє методи низькотемпературного консервування клітин та тканин. Ступінь пошкоджень біологічних об'єктів при їх підготовці до консервування (виділення, зберігання, транспортування, техніка трансплантації) в значному ступені впливають на клінічні результати. Клінічна ефективність залежить від життєздатності та функціональної повноцінності донорського матеріалу.

Застосування кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти хворим з діабетичною ретинопатією – це дуже перспективний та багатообіцяючий напрямок. Безумовно тема дисертації Дьоміної М.Ю. є дуже цікавою та актуальною.

**Зв'язок теми роботи з державними чи галузевими науковими програмами.** Дисертація виконана в межах науково-дослідницької роботи кафедри офтальмології ХМАПО "Функціональні, клінічні та морфологічні зміни при запальній та судинній патології органу зору, методи лікування" №0114U000522, а також науково-дослідницької теми ІПК і К НАН України "Вивчення впливу кріоконсервування на біологічні властивості стовбурових клітин різного походження при моношаровому і об'ємному культивуванні та експериментальній трансплантації" № 0112U003132.

## **2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації.**

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

При виконанні роботи були застосовані сучасні біохімічні, клінічні, морфологічні, молекулярно-біологічні методи досліджень. Для отримання даних було проведено достатню кількість експериментів, дані були проаналізовані з використанням адекватних методів статистичної обробки.

### **3. Наукова новизна та практична значимість результатів дослідження.**

Вперше досліджена експресія генів проангіогенного (VEGF) та нейротрофічного (BDNF) факторів росту при експериментальній патології сітківки ока. Показано, що у патологічно зміненій сітківці домінує експресія гена VEGF і визначається зменшення експресії гена BDNF.

При застосування кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти (кМСКП) відбувається збільшення експресії гена BDNF зниження експресії гена VEGF, що забезпечує нейропротекторний захист і антиангіогенний ефект.

Отримані результати доповнюють дані про механізми дії кМСКП, розширюють знання про процеси репараційної регенерації при ДР на фоні застосування препарату кМСКП.

Отримані нові дані про корекцію метаболічних розладів під дією кМСКП. Показана їх роль у нормалізації вуглеводного, проантиоксидантного, ліпідного статусу організму, що сприяє відновленню сітківки.

Сформульовано етіопатогенетичне обґрунтування доцільності застосування кМСКП для лікування непроліферативної ДР.

Досліджена діабетична ретинопатія на фоні цукрового діабету 2 типу, індукованого висококалорійною дієтою та стрептозотоцином. Вивчені патологічні процеси на ранніх стадіях розвинення діабетичної ретинопатії. Вперше запропоновано використання кМСКП для лікування діабетичної ретинопатії.

На основі отриманих експериментальних даних доведена доцільність застосування кМСКП, що передбачає одноразове одномоментне внутрішньовенне й інтравітреальне введення.

Отримані дані відображені в актах впровадження в навчальний процес та наукову роботу і використовуються в лекційних курсах на кафедрах: офтальмології Харківської медичної академії післядипломної освіти; офтальмології Харківського Національного медичного Університету; Одеського національного медичного університету; неврології з офтальмологією ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України";

очних хвороб Запорізької медичної академії післядипломної освіти; оториноларингології з офтальмологією ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія"; загальної та клінічної імунології й алергології Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна.

#### **4. Повнота викладу наукових положень в опублікованих роботах.**

Основні положення дисертації викладені в 8 наукових статтях, 5 з них опубліковані у провідних фахових журналах, 1 у закордонному виданні, 2 роботи в тезах науково-практичних конференцій.

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. Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.**

Дисертація складається з розділу який присвячений кріоконсервації та отриманні кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти та експериментального підтвердження ефективності їх дії при діабетичній ретинопатії. Таким чином, дисертація повністю відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

#### **6. Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність у цілому.**

Дисертаційна робота Дьоміної Марії Юріївни написана російською мовою, викладена на 154 сторінках комп'ютерного тексту. Побудована по класичному типу і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та списку використаних джерел. Містить 18 таблиць та 16 ілюстрацій. Список використаної літератури містить 333 джерела та викладений на 38 сторінках.

У вступі автором чітко обґрунтована актуальність обраної теми дисертації, сформульована мета, задачі, об'єкт і предмет дослідження, особистий внесок автора. Наукова новизна та практична значимість роботи є суттєвою та актуальною.

В огляді літератури автором висвітлюються сучасні погляди на етіопатогенез та лікування цукрового діабету 2 типу. Окремо описані актуальні напрямки застосування кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти в офтальмологічній практиці при проявах діабетичної ретинопатії.

В розділі 2, "Матеріали і методи досліджень" ретельно описані проведені біохімічні, клінічні, морфологічні, молекулярно-біологічні методи досліджень та методи статистичної обробки отриманих результатів.

Розділ 3 присвячений результатам власних досліджень, який складається з 5 підрозділів. В усіх підрозділах власних досліджень

представлені оригінальні результати, які мають наукове та практичне значення.

Встановлено, що введення стрептозотоцину щурам, що знаходяться на висококалорійної дієти, призводило до розвитку відносної інсулінової недостатності, що підтверджувалося підвищенням рівня базальної глікемії в порівнянні з контрольними тваринами. У той же час, показники постпрандіальної гіперглікемії у експериментальних щурів підтверджують розвиток інсулінрезистентності та інтолерантності до глюкози, що дозволяє верифікувати наявність у них ЦД 2 типу.

Встановлено, що внутрішньовенне і інтравітреальне введення кМСКП діабетичним щурам гальмує розвиток інсулінорезистентності, яке підтверджується зниженням базальної та постпрандіальної гіперглікемії відповідно на 25 та 35 % щодо групи щурів з ЦД та на 25,5 та 36 % щодо групи ЦД+середовище. Застосування кМСКП також супроводжувалося покращенням толерантності до вуглеводів, підтвердженням чому було зменшення площі під глікемічними кривими під час проведення внутрібрюшинного тесту толерантності до глюкози на 30 % у порівнянні з групою тварин з ЦД.

Крім того, застосування кМСКП сприяло збільшенню чутливості до інсуліну на що вказувало майже дворазове збільшення відповідного коефіцієнту, котрий практично не відрізнявся від рівня інтактного контролю. Покращення глікемічного контролю під впливом кМСКП підтверджувалось зниженням концентрації фруктозаміна у сироватці крові на 30 % у порівнянні з групою тварин з ЦД. Таким чином, застосування кМСКП призводить до поліпшення глюкозного гомеостазу, знижує базальну гіперглікемію, інтолерантність до глюкози, інсулінорезистентність і концентрацію фруктозаміну в сироватці крові щурів з ЦД 2 типу.

Також встановлено, що застосування кМСКП у діабетичних щурів приводило до зниження концентрації загальних ліпідів і тригліцеридів у сироватці крові щурів з ЦД відповідно на 20 та 25 % й на 21 та 23,3 % у щурів в групі ЦД+середовище. В результаті проведених досліджень встановлено, що ЦД 2 типу супроводжується інтенсифікацією процесів ліпідної пероксидації, на що вказує істотно підвищений рівень первинних продуктів – дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів у порівнянні з інтактним. У той же час, у щурів з ЦД, відзначалося істотне зниження загальної антиоксидантної активності, концентрації відновленого глутатіону та активності каталази в сироватці крові, що свідчить про послаблення антиоксидантного захисту в умовах ЦД 2 типу.

Використання кМСКП призводило до послаблення оксидативного стресу, про що свідчив достовірно знижений рівень дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів щодо групи тварин з ЦД. В результаті проведених досліджень встановлено, що ЦД 2 типу супроводжується розвитком прозапального процесу, що підтверджується майже дев'ятикратним підвищенням концентрації СРБ в сироватці крові експериментальних тварин

в порівнянні з інтактними щурами. Введення кМСКП тваринам з ЦД 2 типу призводило до майже дворазового зниження концентрації СРБ в сироватці крові в порівнянні з щурами з ЦД. Підтвердженням розвитку прозапального стану на даній моделі ЦД було підвищення концентрації фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) в сироватці крові експериментальних тварин більше, ніж у три рази.

Використання кМСКП призводило до зниження інтенсивності запального процесу, про що свідчила знижена на 30 % концентрація ФНП- $\alpha$  в сироватці крові щурів щодо групи тварин з ЦД та на 29,5 % щодо групи ЦД+середовище. При клінічному обстеженні щурів будь-яких ознак токсикоалергічної реакції (дерматит повік, хемоз, алергічні інфільтрати, помутніння кришталика, ексудативної реакції склоподібного тіла), а також змін судів на введення кМСКП не визначалося. У тварин контрольної та експериментальної групи в післяопераційному періоді патологічних змін не виявлено. Ні на одному етапі дослідження ознак запальної реакції з боку досліджених і контрольних очей не було.

При гістологічному вивченні встановлено, що морфологічними ознаками ранньої нейродегенерації сітківки при ДР є зниження кількості гангліонарних клітин, витончення внутрішнього сітчастого шару, витончення сітківки в цілому, посилення гетерохроматизації ядер, конденсація хроматину. Стінка судів потовщена за рахунок відкладень ліпогіаліну, а також плазморагії та геморагії.

Розділ "Аналіз та узагальнення результатів дослідження" містить обґрунтований аналіз отриманих даних. Матеріал свідчить про ерудицію дисертанта, знання проблеми та суттєвих зауважень не викликає.

Висновки роботи конкретні, стислі, логічні, повністю відповідають поставленим задачам та сформульовані за аналізом матеріалу дисертації.

Автореферат оформлений згідно з сучасними вимогами, а інформативність поданого у ньому матеріалі дозволяє скласти достатньо повне уявлення про викладену автором роботу. **Зміст автореферату і основних положень дисертації ідентичні.**

#### **7. 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. Деякі рисунки не зовсім чіткі, на що вказано автору.
3. В графіках необхідно вказувати рівень достовірності.

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:**

Чому Ви обрали саме комбінований (інтравітреальний та внутрішньовенний) шлях введення кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти. Можливо достатньо тільки внутрішньовенного введення кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти?

**8. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.**

Отримані автором експериментальні дані є достовірним підґрунтям для впровадження кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти в клінічні апробації при діабетичній ретинопатії з метою підвищення ефективності лікування та мінімізації рецидивів.

**9. Висновок**

Дисертаційна робота Дьоміної Марії Юріївни "Застосування кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин плаценти при лікуванні діабетичної ретинопатії (експериментальне дослідження)" є кваліфікованою науковою працею, виконаною особисто здобувачем. Робота за актуальністю, новизною, теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, об'ємом виконаних досліджень, методичним рівнем, достатністю й повнотою опублікування основного змісту роботи відповідає вимогам пункту 11 "Порядку присудження наукових ступенів" затвердженого постановою Кабінета Міністрів України від 24.07.2013 № 567, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю **14.01.35 – кріомедицина**.

**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

*В.І. Шепітько*  
Шепітько В.І.

