

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Копич Юстини Іванівни «Вплив низькотемпературного зберігання трансплантатів підшлункової залози на глікемію та репаративні процеси в організмі реципієнтів» (експериментальне дослідження), що подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина

1. Актуальність обраної теми дисертаційної роботи.

Відомо, що сьогодні у всьому світі ведеться пошук ефективних методів лікування інсулінозалежного цукрового діабету або діабету 1 типу. Інсулінотерапія, яка застосовується для нормалізації рівня глюкози в крові хворих на діабет, не завжди може попередити розвиток пізніх діабетичних ускладнень, які призводять до інвалідизації та ранньої смертності. Трансплантація тканини підшлункової залози або окремих острівців Лангерганса вже проводиться в багатьох світових медичних центрах, проте ефект від її застосування є тимчасовим і лише в поодиноких випадках становить декілька років. Широке розповсюдження та підвищення ефективності трансплантаційного підходу в лікуванні цукрового діабету 1 типу потребує вирішення багатьох питань. Зокрема, одним із важливих аспектів є підготовка трансплантаційного матеріалу, яка може включати його культивування, гіпотермічне зберігання чи кріоконсервування. Кожен з цих етапів впливає на структурний та функціональний стан майбутнього трансплантата, тому визначення оптимальних умов для проведення передтрансплантаційної підготовки є актуальною задачею. Метою дисертаційної роботи Копич Юстини Іванівни було по-перше дослідити вплив культивування, гіпотермічного зберігання та кріоконсервування тканини підшлункової залози неонатальних поросят на її структурно-функціональні властивості, а по-друге дослідити вплив трансплантації тканини або острівців підшлункової залози на рівень глікемії та стан власної

підшлункової залози тварин-реципієнтів з експериментальним цукровим діабетом 1 типу.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана у відділі кріобіохімії і фармакології нейрогуморальних систем Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України в рамках науково-дослідних тем: «Властивості ендокринних тканин за умов кріоконсервування та трансплантації експериментальним тваринам» (шифр 2.2.6.32, № 0106U002163), «Структурно-функціональні властивості та проліферативний потенціал ендокринних тканин при культивуванні, кріоконсервуванні та трансплантації» (шифр 2.2.6.64, № 0111U001196).

3. Наукова новизна, теоретичне та практичне значення роботи.

У дисертаційній роботі вперше в порівняльному аспекті проведено оцінку впливу культивування, гіпотермічного зберігання у манітольмісних розчинах та кріоконсервування тканини підшлункової залози неонатальних поросят на збереженість її структури та функціональних властивостей. Автором було встановлено, що гіпотермічне зберігання тканини підшлункової залози в фармакопейних манітольмісних розчинах «НТК» та «Турусол» дозволяє зберегти її структуру. З практичної точки зору отримані дані є корисними для розробки та доповнення протоколів підготовки тканини підшлункової залози до трансплантації або кріоконсервування.

В роботі було встановлено, що трансплантація тканини та острівців підшлункової залози здатна нормалізувати рівень глікемії у експериментальних тварин. Цікавим виявився той факт, що ефект нормалізації глікемії у випадку трансплантації острівців був менш тривалим ніж при трансплантації фрагментів тканини. Крім того, у тварин з трансплантованими фрагментами тканини спостерігалися більш виражені процеси відновлення власної підшлункової залози. Ці дані мають вагоме практичне значення для сучасної регенеративної медицини, оскільки вони розширюють уявлення про механізм дії трансплантата як замісного і

відновлюючого агента. Безсумнівно, робота в цьому дослідницькому напрямку є актуальною та необхідною.

4. Ступінь обґрунтованості.

При виконанні роботи автор використовував сучасні методи досліджень; для отримання даних було проведено достатню кількість експериментів, дані були проаналізовані з використанням адекватних статистичних методів. Отримані висновки дисертації конкретні і повністю відповідають зазначеним задачам дослідження.

5. Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота Копич Ю.І. має традиційну схему викладання: вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 5 підрозділів результатів власних досліджень, узагальнення, висновки та список цитованої літератури з 217 посилань. Робота викладена на 135 сторінках, проілюстрована 6 таблицями, 10 рисунками та 19 кольоровими мікрофотографіями.

У вступі висвітлюється актуальність та мета роботи, об'єкт і предмет дослідження, новизна і практичне значення роботи, особистий внесок автора. Також у вступі сформульовано п'ять задач дослідження, які, на погляд автора, дозволяють досягти поставленої мети. Зі вступу зрозуміло, що результати досліджень були опубліковані у вітчизняних та закордонних наукових виданнях, а також були обговорені на конференціях і симпозіумах.

В огляді літератури, який складається з 4 підрозділів, автором подано аналіз основних наукових публікацій за темою дисертаційної роботи з використанням вітчизняних і іноземних джерел. При ознайомленні з цим розділом зрозуміло, що автор добре володіє інформацією з досліджуваної проблеми. Проаналізовано як фундаментальні наукові роботи, так і найсучасніші експериментальні дослідження.

В першому підрозділі огляду літератури подано історичний аспект розвитку та становлення трансплантаційного підходу у лікуванні цукрового

діабету, а також висвітлено стан сучасної трансплантології підшлункової залози.

У другому підрозділі автор розглядає існуючі методи та способи підготовки тканини підшлункової залози для трансплантації (культивування, низькотемпературне зберігання та кріоконсервування). В цій частині літературного огляду подано аналіз найбільш вагомих результатів з дослідженої проблеми, отриманих у світових лабораторіях, а також визначено основні умови, необхідні для успішного здійснення кожного зі способів передтрансплантаційної підготовки тканини.

Третій підрозділ присвячено огляду літератури щодо проблеми трасплантації тканини підшлункової залози при лікуванні різних типів цукрового діабету: 1 і 2 типу, діабету, що виникає внаслідок хвороби екзокринної частини підшлункової залози, гестаційного діабету та ін.

В четвертому підрозділі автором проаналізовано інформацію щодо можливості відновлення β -клітин підшлункової залози, яке відбувається протягом життя як в нормальних умовах та може спостерігатися при патологічних станах. Цей підрозділ присвячено проблемам клітинної пластичності та диференціювання стовбурових і прогеніторних клітин у підшлунковій залозі: факторам, які керують цими процесами та механізмам, за допомогою яких вони відбуваються.

Кожний із підрозділів огляду літератури завершено окресленням питань, які стосуються розглянутої проблеми та на сучасному етапі залишаються невирішеними і актуальними, що обумовлює необхідність проведення досліджень у цьому напрямку. Зокрема, окреслюються невирішені питання підготовки трансплантаційного матеріалу, проведення трансплантації фрагментів або острівців підшлункової залози, визначення ефективності трансплантації за її впливом на глікемію та репаративні процеси. Загалом, огляд літератури написано гарною науковою мовою, він легко читається та сприймається.

В розділі «Матеріали і методи досліджень» автором докладно описано методики, які були залучені до виконання роботи. Кількість проведених експериментів дозволила авторові провести достовірну оцінку отриманих результатів та обґрунтувати висновки.

Розділ III - «Результати власних досліджень та їх обговорення» - складається з п'яти підрозділів.

В першому підрозділі автор наводить результати експериментів з культивування фрагментів тканини підшлункової залози та ізольованих острівців, висвітлюючи недоліки та переваги кожного з цих прийомів. Дуже детально описано метод отримання окремих острівців Лангерганса, а також ідентифікації β -клітин. Всі результати супроводжуються наочними мікрофотографіями. Показано, що при культивуванні і фрагменти, і окремі острівці підшлункової залози здатні до базальної та стимульованої секреції інсуліну. При цьому спостерігається деструкція екзокринних клітин, що призводить до очищення острівців від ацинарного компонента і може бути перевагою при трансплантації.

У другому підрозділі автором проведено порівняльний аналіз двох манітольмісних фармакопейних розчинів «НТК» та «Турусол», які було застосовано для гіпотермічного зберігання фрагментів підшлункової залози, в тому числі й перед кріоконсервуванням. На основі даних гістологічного, біохімічного та імуногістохімічного аналізу зроблено висновок, що більш доцільним є використання розчину «НТК», оскільки саме він в більшій мірі забезпечує збереження структури та функціональної активності тканини підшлункової залози, зокрема, ендокринних клітин. Проведені експерименти доводять, що для успішного кріоконсервування фрагментів підшлункової залози може бути використаний режим, який передбачає 10% ДМСО в якості кріопротектора та охолодження зі швидкістю $1^{\circ}\text{C}/\text{хв}$. При цьому зазначається, що технологічний процес підготовки тканини перед кріоконсервуванням може бути доповнений гіпотермічним зберіганням тканини у розчині «НТК» протягом 24 годин.

У третьому підрозділі власних досліджень представлено результати трансплантації нативних фрагментів підшлункової залози, або фрагментів, які пройшли різні етапи передтрансплантаційної підготовки: низькотемпературне зберігання в розчинах «НТК» та «Турусол» або культивування. Показано, що у всіх випадках, незалежно від способу передтрансплантаційної підготовки чи її відсутності, у тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігається поступове зниження рівня глікемії з досягненням нормального до 45 доби. При цьому нормалізація глікемії спостерігалась в умовах, коли трансплантат повністю був заміщений сполучною тканиною внаслідок відторгнення, що свідчило про наявність «непрямого» впливу трансплантата на глікемію і обумовило необхідність дослідження власної підшлункової залози реципієнта.

Четвертий підрозділ присвячено трансплантації окремих острівців підшлункової залози та острівцевоподібних кластерів. Введення острівців проводили інтрапортально. В деяких випадках трансплантаційний матеріал був поміщений в капсулу з інтестинальної підслизової оболонки з метою полегшення його ідентифікації в майбутньому та трансплантований підшкірно. Надалі результати трансплантації оцінювали в порівняльному аспекті. При інтрапортальній трансплантації острівців було досягнуто тимчасового цукрознижуючого ефекту, тоді як при трансплантації інкапсульованих острівців такого ефекту зовсім не спостерігалось внаслідок деструкції острівців та фіброзу капсули.

У п'ятому підрозділі представлено результати дослідження відновлювальних процесів у підшлункових залозах тварин-реципієнтів за допомогою імуногістохімічного аналізу. Було встановлено, що кількість проліферуючих клітин у підшлункових залозах тварин з трансплантатами значно перевищує показники інтактних тварин. Це було характерним для тварин з трансплантатами фрагментів підшлункової залози, тобто тих, у яких спостерігалась нормалізація глікемії. Пов'язуючи ці два факта, можна припустити, що у досягненні нормоглікемії певну роль відіграють власні

клітини тварини-реципієнта, які відновлюються чи утворюються під впливом клітин трансплантата.

В заключній частині здобувач логічно підводить підсумок проведених досліджень. Роботу завершують висновки, які в повній мірі відповідають поставленій меті і задачам роботи та впливають з проведених досліджень.

6. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті.

Всі основні положення дисертаційної роботи у повній мірі відображені в наукових працях. За матеріалами дисертації в наукових фахових виданнях опубліковано 11 наукових робіт, серед яких 1 стаття, яка входить до міжнародної наукометричної бази даних. Автореферат повністю відповідає змісту дисертації, написаний стисло, гарною науковою мовою.

7. Зауваження щодо змісту дисертації.

При аналізі дисертаційної роботи виникли деякі дискусійні питання. В сучасній клітинній терапії формується тенденція до вивчення «долі» трансплантованих клітин в організмі, а не тільки констатація ефектів від їх введення. Що має відбуватися з клітинами або острівцями, які були введені в портальний кровообіг тварин? Чи можуть бути у цьому випадку імунні системні реакції, а також порушення портального кровообігу?

В цілому дисертаційна робота Копич Ю.І. справляє позитивне враження. Дані експериментальних досліджень представлені в логічній послідовності відповідно до мети і поставлених задач. Необхідно відзначити, що опис результатів морфологічних і морфометричних досліджень супроводжується великою кількістю ілюстративного матеріалу у вигляді фотографій. Вказані недоліки та зауваження не принципові і не пригнічують загальної науково-практичної цінності роботи.

8. Висновок.

Дисертаційна робота Копич Юстини Іванівни «Вплив низькотемпературного зберігання трансплантатів підшлункової залози на глікемію та репаративні процеси в організмі реципієнтів» (експериментальне

дослідження), що присвячена актуальному напрямку сучасної кріомедицини, за актуальністю, об'ємом, рівнем проведених досліджень, науковою новизною та практичним значенням, особистим внеском автора та кількістю публікацій відповідає пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» ДАК України щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри офтальмології
Харківська медична академія
післядипломної освіти МОЗ України
м. Харків
доктор медичних наук, професор



Підпис професора Дьоміна Ю. А. засвідчую

Підпис _____ Дьомін Ю. А.