

## 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.

Цукровий діабет – хронічне захворювання, яке посідає третє місце серед причин смертності після серцево-судинних захворювань і раку. З огляду на те, що інсулінозалежний цукровий діабет (діабет 1 типу) починається зазвичай в юнацькому віці і призводить до ранньої інвалідизації і зменшення тривалості життя хворих, дане захворювання є однією з найважливіших медико-соціальних проблем. Зазвичай для нормалізації рівня глюкози в крові хворих на цукровий діабет 1 типу застосовуються щоденні багаторазові ін'єкції інсуліну. Проте замісна гормональна терапія не здатна попереджати розвиток і прогресування пізніх ускладнень діабету, тому ведуться активні пошуки альтернативних, більш «фізіологічних» способів корекції інсулінової недостатності. Одним з таких способів є трансплантація тканини або острівців підшлункової залози. В даному випадку крім синтезу і секреції інсуліну, трансплантат здатен до продукції біологічно активних медіаторів, які виконують функції паракринних і аутокринних фізіологічних регуляторів.

На сучасному етапі розвитку технологій клітинного культивування використання клітинних і тканинних трансплантатів стає все більш розповсюдженим. При застосуванні цього методу необхідно проводити певні процедури підготовки та зберігання трансплантата, які можуть негативно впливати на стан його функціональних одиниць (клітин, острівців). Дисертаційна робота Копич Ю.І. спрямована на розробку способів підготовки та збереження тканини підшлункової залози новонароджених

свиней з метою їх подальшої трансплантації тваринам в експериментальних умовах.

## 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 проведено масштабне порівняння двох можливих підходів до трансплантації: введення фрагментів підшлункової залози та окремих клітин і острівців. Порівняльну оцінку було проведено за багатьма критеріями, починаючи від функціональної активності матеріалу в умовах *in vitro* і закінчуючи здатністю нормалізувати рівень глюкози та ініціювати репаративні процеси у тварин-реципієнтів. Підготовку та зберігання трансплантаційного матеріалу також здійснювали різноманітними способами – культивували, зберігали в гіпотермічних умовах та кріоконсервували. На всіх етапах передтрансплантаційної підготовки досліджували зміни структури та функціональної активності майбутнього трансплантата, що надало можливість обрати найбільш прийнятний спосіб його зберігання, який може стати основою для впровадження у медичну практику.

Практичне значення результатів дослідження полягає в тому, що автором доведено перевагу трансплантації фрагментів тканини підшлункової залози перед окремими острівцями, а також можливість відновлення нормального рівня глюкози у реципієнтів без використання імуносупресивної терапії. Посилення репаративних процесів у власній

підшлунковій залозі реципієнтів, що спостерігалось після трансплантації, надає практичної значимості цій роботі, оскільки розширює уявлення про потенціал клітинних і тканинних трансплантатів та можливість їх використання у регенеративній медицині.

#### 4. Ступінь обґрунтованості.

При проведенні експериментальних досліджень були використані сучасні методичні підходи. Кількість проведених експериментів та адекватні статистичні методи, які було обрано для аналізу отриманих результатів, підтверджують їх достовірність. Висновки, зроблені дисертантом, викладено чітко, конкретно і у відповідності до окреслених задач дослідження.

#### 5. Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 135 сторінках машинописного тексту і містить вступ, розділи «Огляд літератури», «Матеріали і методи дослідження», «Результати та їх обговорення», узагальнення результатів дослідження, висновки і список літератури, який включає 217 джерел. Робота ілюстрована 6 таблицями, 19 мікрофотографіями і 10 рисунками.

Вступ містить викладення актуальності обраної теми роботи, об'єкту та предмету дослідження, мети роботи, наукової та практичної новизни, практичного значення отриманих результатів. Результати досліджень в повній мірі були опубліковані у вітчизняних та закордонних наукових виданнях, а також обговорювалися на конференціях, симпозіумах і медичних форумах.

Огляд літератури викладений на 26 сторінках і складається з чотирьох підрозділів. Загалом, огляд літератури написано гарною науковою мовою, він легко читається та сприймається. При ознайомленні з цим розділом зрозуміло, що автор добре володіє інформацією з досліджуваної проблеми.

В першому підрозділі дисертант наводить відомості про сучасний стан трансплантації острівців підшлункової залози та окреслює питання, які є невирішеними на даний час, проте потребують досконалого вивчення. У другому підрозділі надаються відомості щодо умов культивування,

гіпотермічного зберігання та кріоконсервування тканини або острівців підшлункової залози, які автор обрав за основу для проведення власних досліджень. У третьому підрозділі наведено літературні дані про доцільність та результати трансплантації біоматеріалу підшлункової залози, отримані в клінічних умовах на пацієнтах з різними формами цукрового діабету. Четвертий підрозділ містить літературні дані, які свідчать про певний регенераторно-відновлювальний потенціал клітин підшлункової залози та описують декілька механізмів відновлення та нарощування  $\beta$ -клітинної маси.

У розділі «Матеріали і методи» докладно описані сучасні методи, які використовувалися при виконанні роботи: культивування, кріоконсервування, трансплантації, імуногістохімічного та імуноферментного аналізу, методи світлової та флуоресцентної мікроскопії, статистичні методи. Загалом, слід відмітити, що експерименти добре сплановані, кількість експериментальних груп є достатньою для вивчення поставлених у дисертаційній роботі задач, коректність використаних методик та одержаних результатів не викликає сумнівів.

Результати власних досліджень і їх обговорення викладено дисертантом у 5 підрозділах третього розділу.

У підрозділі 3.1. автор порівнює здатність фрагментів тканини підшлункової залози та ізольованих острівців перебувати в умовах *in vitro*. За допомогою імуногістохімічного забарвлення та флуоресцентної мікроскопії показано відмінності структури підшлункової залози поросят. Детально описано метод отримання окремих острівців Лангерганса та проведено їх кількісний морфометричний аналіз. В порівняльному аспекті вивчено здатність фрагментів тканини і острівців підшлункової залози до базальної та стимульованої секреції інсуліну.

У підрозділі 3.2. автор наводить результати гіпотермічного зберігання та кріоконсервування фрагментів підшлункової залози, та порівнює ефективність двох манітолвмісних фармакопейних розчинів «НТК» та «Турусол», які було застосовано.

Для визначення збереженості тканини підшлункової залози в умовах гіпотермічного зберігання та наступного кріоконсервування автор проводив гістологічні дослідження серійних зрізів, які були пофарбовані гематоксиліном та еозином. При цьому оцінювався ступінь вираженості альвеолярно-трубчастої структури залози та розмір ділянок аутолізу, які свідчили про наявність деструктивних процесів. Для кількісного аналізу ступеня руйнування тканини було використано біохімічний метод вимірювання білка. Крім оцінювання загальної збереженості тканини, автор проводив визначення кількості секреторних клітин, які є головним елементом трансплантата.

Таким чином, застосування різноманітних методів оцінювання збереженості тканини дозволило автору дійти висновку про доцільність використання розчину «НТК» для гіпотермічного зберігання тканини підшлункової залози. Також було встановлено, що тканину можна успішно кріоконсервувати у 10% розчині ДМСО зі швидкістю  $1^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ .

У третьому підрозділі власних досліджень наведено результати трансплантації фрагментів підшлункової залози. Серед груп порівняння були як нативні фрагменти, так і фрагменти, які пройшли різні етапи передтрансплантаційної підготовки. Цікаво, що при всіх варіантах підготовки тканини, а також при трансплантації нативної тканини спостерігається більш-менш однакова динаміка зниження рівня глікемії у тварин з експериментальним цукровим діабетом.

Слід звернути увагу на той факт, що за відсутності будь-якої імуносупресивної терапії до 45 доби післяопераційного періоду спостерігалось майже повне заміщення трансплантата сполучною тканиною. Незважаючи на це, глікемія лишалася на нормальному рівні, що підтверджувало можливість протікання репаративних процесів у власній підшлунковій залозі реципієнта, описану в літературі.

У підрозділі 3.4. описано результати альтернативного підходу - трансплантації окремих острівців підшлункової залози, яку здійснювали або

інтрапортально, або підшкірно, попередньо розміщуючи клітини в капсулі з інтестинальної підслизової оболонки. На відміну від трансплантації фрагментів тканини, результати введення клітин та острівців виявилися невітнішими. Незалежно від способу введення, наприкінці терміну спостереження глікемія була на дуже високому рівні, подібно до тварин з діабетом без трансплантації. Деякий цукрознижуючий ефект спостерігався при інтрапортальній трансплантації, проте він був тимчасовий.

Підрозділ 3.5. представляє результати дослідження регенеративних процесів у підшлункових залозах тварин-реципієнтів після трансплантації фрагментів тканини або окремих острівців підшлункової залози. Встановлено, що процеси відновлення клітин найбільш активно відбуваються у тварин з тканинними трансплантатами і в меншій мірі у тварин з трансплантованими клітинами. Автор висловлює думку, що стійкий цукрознижуючий ефект при трансплантації фрагментів тканини і тимчасовий при інтрапортальному введенні клітин мають різне походження: в першому випадку відбувається стимулювання власної залози реципієнта, а в другому – пряма компенсаторна дія гормону, що міститься в клітинах трансплантата.

В заключній частині наведено узагальнення результатів, які було викладено і проаналізовано в третьому розділі. Роботу завершують висновки, які є обґрунтованими та в повній мірі відповідають поставленій меті і задачам роботи.

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

За матеріалами дисертації в наукових фахових виданнях опубліковано 11 наукових робіт, в тому числі 1 стаття, яка входить до міжнародної наукометричної бази даних. Автореферат повністю відповідає змісту дисертації, написаний стисло, гарною науковою мовою.

7. Зауваження щодо змісту дисертації.

В цілому дисертаційна робота Копич Ю.І. справляє позитивне враження. Дані експериментальних досліджень представлені в логічній

послідовності відповідно до мети і поставлених задач. В тексті дисертації зустрічаються деякі лінгвістичні та стилістичні помилки, проте вони не є принциповими і не пригнічують загальної науково-практичної цінності роботи.

В роботі було проведено порівняльну оцінку ефективності відновлення глікемії у тварин з цукровим діабетом після введення острівців або трансплантації фрагментів тканини. Який механізм, на думку автора, лежить в основі більш активного репаративного впливу на власну підшлункову залозу реципієнта у разі трансплантації фрагментів?

### 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 МОН України щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина.

### **Офіційний опонент:**

асистент кафедри хірургічних хвороб  
Харківського національного  
університету ім. В. Н. Каразіна,  
кандидат медичних наук

Введенський Б. П.

Підпис асистента Введенського Б. П. засвідчує

*Вед. Вк*

*Вед.*



*Введенський*