

ВІДГУК

*офіційного опонента доктора медичних наук, професора, завідувача
кафедри загальної, дитячої та онкологічної урології*

Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України

Ігоря Михайловича Антоняна

на дисертаційну роботу Глоби Вячеслава Юрійовича за

**«Застосування кріоконсервованих культур клітин та
нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній
обструкції»**

*поданої в разову спеціалізовану раду ДФ 64.242.004 при Інституті
проблем кріобіології і кріомедицини НАН України*

на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань

22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина

Науковий керівник: *доктор медичних наук, старший науковий співробітник, виконуючий обов'язки завідувача відділу кріоендокринології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України Легач Євген Іванович.*

1. Актуальність обраної теми дисертації. *Порушення уродинаміки внаслідок інфравезикальної обструкції є актуальною проблемою сучасної урології. До інфравезикальної обструкції в зв'язку з доброякісною гіперплазією передміхурової залози схильні більше ніж 50% чоловіків похилого віку. Часткова або повна обструкція виникає у 8-10% жінок як ускладнення хірургічного лікування нетримання сечі. За умов тривалої хронічної обструкції сечового міхура та підвищення уретрального опору відбувається порушення кровообігу, спостерігається ішемія клітин, гіпертрофія детрузора, можливе виникнення запалювальних процесів, внаслідок чого відбувається денервація міхура та втрата скоротливої функції.*

На теперішній час застосування нейротрофічних факторів та інших біологічно активних речовин для реіннервації сечового міхура розглядається як перспективний підхід до корекції наслідків обструкції. Одним із джерел

отримання біологічно активних композицій є кондиційовані середовища від культур стовбурових мезенхимальних клітин, а також клітин нейрального походження. У теперішній час проводяться наукові роботи по культивуванню та кріоконсервуванню культури клітин зі спінальних гангліїв та отриманню безклітинних середовищ, які містять нейротрофічні фактори. Однак, на теперішній час не було зроблено спроби застосування такої культури або її секретомів для відновлення рецепторного пула сечового міхура та покращення його скоротливості при інфравезікальній обструкції.

Представлена дисертаційна робота Глоби В.Ю. була присвячена саме цьому актуальному завданню – дослідженню впливу біологічно активних композицій (кріоекстракту, кондиційованих середовищ нативної і кріоконсервованої культур клітин), отриманих зі спінальних гангліїв, а також препарату «Кортексін» на структурно-функціональні характеристики сечового міхура щурів із інфравезікальною обструкцією.

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

Дисертаційна робота Глоби В.Ю. була виконана в рамках відомчої науково-дослідної роботи відділу кріоендокринології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Властивості кріоконсервованих первинних культур клітин ендокринних залоз неонатальних тварин *in vitro* та *in vivo* при трансплантації» (шифр – 2.2.6.104, № державної реєстрації – 0116U003494, 2016-2020, науковий керівник НДР Бондаренко Т.П.), де автор самостійно виконував окремі розділи.

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Достовірність отриманих теоретичних та практичних розробок визначається детально продуманою логікою досліджень, використанням сучасних методів дослідження, значним обсягом експериментальної роботи та статистичною обробкою результатів із застосуванням математичних

методів аналізу. Викладене вище переконливо доводить, що наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані Глобою В.Ю., є обґрунтованими і достовірними.

4. Наукова новизна отриманих результатів.

Автором вперше на експериментальній моделі було встановлено позитивний ефект застосування кріоекстракту та кондиційованих середовищ нативної і кріоконсервованої культур клітин зі спінальних гангліїв на морфологічні характеристики та скоротливу активність сечового міхура при інфравезікальній обструкції у щурів. *Вперше* експериментально доведена доцільність використання вищеназваних біологічно активних композицій для відновлення структурно-функціональних показників сечового міхура при даній патології та опрацьований внутрішньочеревний шлях їх введення. *Вперше* встановлено відсутність прямої органоспецифічної дії нейротрофічного препарату «Кортексін» на структурно-функціональні показники сечового міхура при інфравезікальній обструкції у щурів. *Вперше досліджено* вплив кріоконсервування на характер біологічної дії секретомів культур клітин спінальних гангліїв на сечовий міхур щурів при інфравезікальній обструкції. *Вперше показана* можливість використання ксено- та аlogenних клітин спінальних гангліїв і отриманих від них нейротрофічних факторів з метою корекції наслідків обструкції. *Вперше встановлена* відсутність прямих нефротоксичних ефектів при використанні біологічно-активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, у щурів при інфравезікальній обструкції.

5. Практичне значення отриманих результатів.

У результаті розв'язання поставлених у роботі задач автором було оцінено ефективність використання біологічно-активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, для корекції наслідків інфравезікальної обструкції. Одержані наукові результати описують особливості змін будови та скоротливої функції сечового міхура при патології та за умов впливу

біологічно активних композицій, які містять нейротрофічні фактори. На підставі одержаних даних встановлено активацію процесів структурної перебудови та іннервації стінки сечового міхура під впливом використаних композицій, що привело до часткового відновлення його структури й функції після перенесеної інфравезікальної обструкції. Це є цінним результатом, який може бути використаний у науковій та медичній практиці як теоретичне підґрунтя для розробки підходів до лікування захворювань та патологічних станів, обумовлених різними типами обструкції сечового міхура.

6. Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати наукових досліджень Глоби В.Ю. обговорювались та доповідались на 9 вітчизняних та міжнародних науково-практичних конференціях.

7. Оцінка змісту, оформлення та обсягу дисертації, зауваження щодо оформлення.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію представлено українською мовою на 156 сторінках, включаючи список використаної літератури – 259 джерел. Дисертаційна робота побудована за класичним планом та містить: анотацію, зміст, перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та термінів, вступ, огляд літератури, матеріали і методи, три розділи результатів власних досліджень, узагальнення результатів, висновки, перелік використаних джерел, додатки. Дисертаційну роботу проілюстровано 45 рисунками, 19 мікрофотографіями і 1 таблицею. Матеріали дисертації викладено з дотриманням норм наукового стилю та правильним вживанням фахової термінології; між послідовними частинами дисертації наявний чіткий причинно-наслідковий зв'язок.

У розділі «Вступ» чітко та повно визначено актуальність проблеми, мету та завдання роботи, сформульовано об'єкт і предмет дослідження, викладені наукова новизна і практичне значення одержаних результатів.

Надано відомості про особистий внесок здобувача, апробацію та об'єм матеріалів дисертації.

Розділ «Огляд літератури» складається з 4 підрозділів, в яких автор аналізує морфологічні і функціональні особливості сечового міхура, характеристики обструкції сечового міхура і її наслідки, властивості нейротрофічних факторів та їх роль в організмі, перспективи отримання і використання біологічно активних композицій, які містять нейротрофічні фактори. Автором проведено пошук існуючих способів застосування біологічно активних композицій (кріоекстракту, кондиційованих середовищ нативної і криоконсервованої культур клітин), отриманих зі спінальних гангліїв, а також препарату «Кортексін» з метою впливу на структурно-функціональні характеристики сечового міхура щурів із інфравезікальною обструкцією. На основі цього можна заключити, що на теперішній час не існує способів використання біологічно активних композицій для корекції наслідків інфравезікальної обструкції, що підкреслює новизну представленого дослідження.

Розділ «Матеріал та методи дослідження» детально описує загальний дизайн дослідження та використані методи. У роботі автор застосував сучасні методи експериментального дослідження та статистичного аналізу, що дозволило досягти встановлену мету й виконати поставлені завдання, отримати чіткі й достовірні результати, зробити належні висновки.

У першому розділі, присвяченому дослідженню проявів інфравезікальної обструкції, автор встановив, що моделювання патології на самках щурів призводить до збільшення у 1,5раза відносної маси сечового міхура за рахунок підвищення товщини м'язового шару (на 37,3%) і зростання індексу співвідношення м'язовий шар/стінка сечового міхура (на 6,5%) порівняно з інтактними тваринами, а також до різкого зменшення відносної площі гладенько м'язових (у 9,4 раза) та нервових (у 8,2 раза) клітин, визначених за експресією маркерів актину та S 100. Вищевказані

гістологічні перебудови сечового міхура на тлі інфравезікальної обструкції негативно впливають на рівень його скоротливої активності, що проявляється у зниженні пілокарпін-індукованої активної напруги (у 1,4 раза) та максимальної амплітуди скорочення (у 2,5 раза), а також збільшенні KCl-індукованої активної напруги (у 1,7 раза).

У розділі **«Вивчення характеристик сечового міхура тварин після перенесеної обструкції за умов впливу біологічно-активних композицій»** представлено результати дослідження дії біологічно-активних композицій (кріоекстракту, кондиційованих середовищ нативної і криоконсервованої культур клітин), отриманих зі спінальних гангліїв, а також препарату «Кортексін» на морфофункціональні характеристики сечового міхура тварин після перенесеної обструкції. Автор довів, що використання біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, в цілому сприяло нормалізації маси та гістоморфологічних показників сечового міхура у тварин, підданих моделюванню інфравезікальної обструкції. Встановлено статистично значуще зниження індексу співвідношення м'язовий шар/стінка сечового міхура на 5,5 та 17% після введення кріоекстракту та кондиційованого середовища нативної культури клітин спінальних гангліїв; товщини м'язового шару на 13,7 та 27,3% після введення кріоекстракту та кондиційованого середовища нативної культури клітин спінальних гангліїв; відносної маси сечового міхура у 1,7 і 1,5 раза після введення кріоекстракту та кондиційованого середовища криоконсервованої культури спінальних гангліїв.

Використання біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, сприяло відновленню скоротливої активності сечового міхура. Встановлено статистично значуще зростання пілокарпін-індукованої активної напруги у 3,6, 2,9 та 6,5 раза після введення кріоекстракту та кондиційованих середовищ культур клітин спінальних гангліїв. Виявлено збільшення максимальної амплітуди скорочення у 2,8 та 2,7 раза після

введення кріоекстракту та кондиційованого середовища кріоконсервованої культури спінальних гангліїв. При цьому використання секретомів культур клітин спінальних гангліїв підвищувало KCl-індуковану активну напругу у 5,2 і 3,2 рази.

Застосування біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, сприяло зростанню відносної площі експресії білку S 100 у груп з введенням кріоекстракта у 47,5 рази та кондиційованого середовища нативної культури клітин спінальних гангліїв у 10,5 рази, ніж у щурів з ІВО без лікування. Також встановлено збільшення відносної площі експресії білку актину у всіх досліджуваних груп у 3 рази (введення кріоекстракту) та у 4,7 рази у щурів з використанням кондиційованих середовищ нативної і кріоконсервованої культур клітин спінальних гангліїв. Це підтверджувало стимулюючий вплив на процеси реінервації та ремоделювання сечового міхура.

У розділі **«Дослідження впливу біологічно активних композицій на масу тварин та біохімічні показники крові після перенесеної інфравезікальної обструкції»** представлено результати дослідження дії біологічно активних композицій (кріоекстракту, кондиційованих середовищ нативної і кріоконсервованої культур клітин), отриманих зі спінальних гангліїв, а також препарату «Кортексін» на масу тварин та біохімічні показники крові (загальний білок, сечовину, креатинін) після перенесеної інфравезікальної обструкції. Автор встановив відсутність нефротоксичного впливу та негативної системної дії використаних біологічно-активних композицій за умов внутрішньочеревного введення.

У розділі **«Узагальнення та аналіз результатів»** автором стисло та у логічній послідовності наведено отримані дані, при цьому власні спостереження обговорено та порівняно із сучасними досягненнями інших авторів.

«Висновки» відповідають поставленим завданням та відображають основний зміст дисертації.

«Список літератури» оформлений згідно вимогам України.

8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Всі матеріали дисертаційної роботи Глоби В.Ю. викладені в 13 працях, серед яких 4 статті у наукових фахових виданнях України (1 входить до міжнародної наукометричної бази Scopus), 1 стаття у іноземному виданні країн ЄС/ОЕСР; 9 тез у матеріалах науково-практичних конференцій та конгресів, в тому числі 4 у міжнародних.

9. Зауваження та запитання щодо змісту дисертації.

Принципових зауважень щодо змісту дисертації немає. Всі розділи оцінені позитивно.

Однак при ознайомленні з роботою виникли дискусійні запитання:

1. *Чи відбувалось збільшення об'єму сечового міхура після моделювання обструкції? Чому для моделювання був обраний саме лігатурний метод?*
2. *Чому використовувався саме внутрішньочеревний шлях введення біологічно активних композицій?*
3. *Чи вважає автор збільшення маси сечового міхура за характерний прояв інфравезикальної обструкції? З чим пов'язана зміна маси сечового міхура після моделювання обструкції? Чи була вона повною або частковою? За якими критеріями проводилася оцінка?*

10. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності.

Розглянувши звіт щодо перевірки на плагіат, отримано висновок, що дисертаційна робота Глоби В.Ю. «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції» є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить

елементів плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

11. Відповідність роботивимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора філософії (висновок).

Вважаю, що дисертаційна робота Глоби Вячеслава Юрійовича «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції» є завершеною працею, яка за актуальністю теми, методичним рівнем проведених досліджень, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів відповідає вимогам, «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою КМУ від 06.03.2019 № 167 та «Вимогам до оформлення дисертації», затвердженими наказом МОН України від 12.01.2017 № 40, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина.

Офіційний опонент

доктор медичних наук, професор

завідувач кафедри загальної,

дитячої та онкологічної урології

Харківської медичної академії

післядипломної освіти МОЗ України

Алтонян І.М.

