

## **Відгук**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Глоби Вячеслава Юрійовича за темою “Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції”, подану до захисту на здобуття вченого ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина в спеціалізовану вчену раду ДФ 64.242.004 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України**

**Актуальність обраної теми.** Порушення уродинаміки внаслідок інфравезікальної обструкції є актуальною проблемою сучасної урології. За умов тривалої хронічної обструкції сечового міхура та підвищення уретрального опору відбувається порушення кровообігу, спостерігається ішемія клітин, гіпертрофія детрузора, можливе виникнення запалювальних процесів. Одним з наслідків структурно-функціональної перебудови клітинних шарів є втрата рецепторного апарата та денервація стінки міхура, яка може сягати більш 50% при цьому патологічному стані.

На теперішній час реіннервація сечового міхура є актуальним завданням урології, відновлювальної хірургії та тканинної інженерії сечовивідних шляхів. Для вирішення таких завдань застосовуються культури клітин нейрального походження та продукти їх синтезу та секреції (секретоми), зокрема нейротрофічні фактори. Відомо, що похідні глії здатні виробляти ряд нейротрофічних факторів, які сприяють регенерації нейронів та стимулюють спрямований ріст аксонів нервових клітин. Це є цінним для реіннервації сечового міхура та відновлення пулу нервових закінчень у його стінці, але досі не було проведено досліджень щодо доцільності застосування такого методу в урології.

Кріоконсервування є стандартним методом збереження клітинних культур. Однак досі не було досліджено, як впливає процес

кріоконсервування на секретони, отримані від культур клітин нейрального походження.

Саме вирішенню такого одночасно актуального і масштабного завдання була присвячена робота Глоби В.Ю., метою якої було вивчення впливу біологічно активних композицій зі спінальних гангліїв (кріоекстракту та кондиційованих середовищ від нативних та кріоконсервованих клітинних культур) на перебіг і наслідки обструкції сечового міхура у щурів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Подана до захисту дисертаційна робота Глоби В.Ю. за темою «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції» 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.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.** Достовірність наукових положень та висновків дисертаційної роботи визначається детально продуманою логікою досліджень, використанням сучасних методів дослідження, значним обсягом експериментальної роботи та статистичною обробкою результатів із застосуванням математичних методів аналізу.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Автором було сформульовано 6 положень, які характеризують новизну отриманих результатів. *Вперше* на експериментальній моделі встановлено позитивний ефект застосування кріоекстракту та секретонів 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 алогенних 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.

**Практичне значення отриманих результатів.** В результаті розв'язання поставлених в роботі завдань отримані нові дані щодо використання біологічно активних композицій зі спінальних гангліїв з метою нейротрофічної стимуляції для лікування порушень уродинаміки, зокрема викликаних інфравезікальною обструкцією. На підставі одержаних даних встановлено ефективність використання безклітинних кріоекстракту, а також секретомів від нативних та кріоконсервованих культур клітин зі спінальних гангліїв, для стимуляції реіннервації та відновлення структури і функцій сечового міхура після перенесеної інфравезікальної обструкції.

Наведені результати можна використовувати як теоретичне підґрунтя для розробки підходів до лікування захворювань та патологічних станів, обумовлених різними типами обструкції сечового міхура. Практичні результати, одержані при моделюванні інфравезікальної обструкції та за умов введення біологічно активних композицій, які описують особливості

патогістологічної перебудови сечового міхура, а також зміни його скоротливої активності, можуть бути використані для курсів лекцій і практичних занять студентів вищих навчальних закладів медичного та біологічного профілю.

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

### **Оцінка змісту дисертації**

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота побудована за класичним планом та містить всі необхідні розділи: анотацію, зміст, перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та термінів, вступ, огляд літератури, матеріали та 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 українською мовою з дотриманням норм наукового стилю та правильним вживанням фахової термінології; між послідовними частинами дисертації наявний чіткий причинно-наслідковий зв'язок.

У розділі **Вступ** автор визначив актуальність проблеми, мету та завдання роботи, сформулював об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів. У розділі також надано відомості про особистий внесок здобувача, апробацію та об'єм матеріалів дисертації.

*Зауважень до розділу немає.*

Розділ **Огляд літератури** складається з 4 підрозділів, в яких автор проаналізував морфологічні та функціональні особливості сечового міхура у нормі та за умов обструкції, виклав інформацію щодо нейротрофічних факторів та їх ролі в організмі, перспектив отримання та клінічного використання біологічно активних композицій, які містять нейротрофічні фактори. На основі цього можна заключити, що на теперішній час практично

не існує підходів застосування біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, для корекції наслідків інфравезікальної обструкції, що підкреслює новизну представленого дослідження.

*Зауважень до розділу немає.*

Розділ «**Матеріал та методи дослідження**» надано у 13 підрозділах, які детально описують загальний дизайн дослідження та використані методи. У роботі автор застосував сучасні методи експериментального дослідження, а саме: хірургічний метод – для моделювання інфравезікальної обструкції; метод ферментативного виділення клітин – для отримання клітин зі спінальних гангліїв; метод моношарового культивування – для отримання кондиційованого середовища культури клітин зі спінальних гангліїв; світлової мікроскопії – для вивчення морфологічних особливостей тканини сечового міхура; методу морфометричного аналізу – для кількісного аналізу морфологічних змін у тканині сечового міхура; методу імуногістохімії – для вивчення експресії специфічних маркерів у тканині сечового міхура; методів математичної статистики – для статистичного аналізу результатів досліджень. Це дозволило авторові досягти встановлену мету й виконати поставлені завдання, отримати чіткі й достовірні результати, зробити належні висновки.

*Зауважень до розділу немає.*

У Розділі «**Моделювання експериментальної інфравезікальної обструкції у щурів та вивчення впливу на морфофункціональні показники сечового міхура**» детально описано характері структурно-функціональні зміни сечового міхура за обструкції. Автором було встановлено збільшення відносної маси міхура, структурну перебудову у вигляді зменшення середньої висоти перехідного епітелію, збільшення загальної товщини стінки, потовщення м'язового шару, підвищення індексу співвідношення м'язовий шар/стінка сечового міхура, зменшення відносної площі експресії маркеру гліальних клітин S100 та маркеру гладеньком'язових клітин актину. Автором було зафіксовано зміну скоротливої активності

сечового міхура, а саме: збільшення спонтанної скорочувальної активності, зниження показників пілокарпін-стимульованої активної напруги та максимальної амплітуди скорочення.

*Питання до розділу.*

1. Чому саме для моделювання інфравезікальної обструкції були обрані самиці щурів?

2. Чому Ви використовували оцінку експресії саме S100 у тканині сечового міхура? Чи можливо було залучити інші маркери для оцінки реіннервації тканини?

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.

Після введення кріоекстракту та нативної/криоконсервованої культур клітин спінальних гангліїв встановлено позитивний вплив на морфологічні характеристики та скоротливу функцію сечового міхура щурів, які були піддані моделюванню інфравезікальної обструкції. Визначено, що криоконсервування впливає на характер біологічної активності кондиційованого середовища використаної культури клітин. При цьому секретом криоконсервованої культури виявився більш ефективним для корегування наслідків інфравезікальної обструкції порівняно з нативною культурою.

*Зауважень до розділу немає.*

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 та 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. Встановлено найбільш виражене підвищення рівня загального білка та маси тіла у щурів, яким вводили кріоекстракт спінальних гангліїв. Виявлено, що використання всіх біологічно активних композицій не викликало підвищення рівню сечовини в крові, а значить не приводило до нефротоксичних ефектів. Застосування кріоекстракту та кондиційованого середовища нативної культури клітин спінальних гангліїв дещо підвищувало рівень креатиніну в крові, але ці зміни, як вважає автор, були пов'язані зі збільшенням маси щурів.

*Зауважень до розділу немає.*

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.

**Висновків** шість. Вони відповідають поставленим завданням та відображають основний зміст дисертації.

*Зауважень немає.*

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

Всі матеріали дисертаційної роботи Глоби В.Ю. викладені в 13 працях, з них: 3 статті в спеціалізованих виданнях України, 1 з яких входить до міжнародної наукометричної бази Scopus, 1 стаття у зарубіжному журналі, 9 тез у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій.

**Зауваження та запитання щодо змісту дисертації.**

Принципових зауважень щодо змісту дисертації немає. Однак при ознайомленні з роботою виникли наступні *дискусійні запитання*:

1. Автор встановив кращий лікувальний ефект кондиційованого середовища кріоконсервованої культури порівняно з нативною. Чим це пояснити? За якими показниками вона має перевагу?

2. Автор розглядає «морфо-функціональні характеристики» сечового міхура. Що він має на увазі під цим терміном? Чи досліджувалися інші особливості стану сечового міхура на тлі інфравезікальної обструкції у щурів?

**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 інфравезікальній 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.

## **ВИСНОВОК**

Вважаю, що дисертаційна робота Глоби Вячеслава Юрійовича «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції» є завершеною працею, яка в сукупності вирішує важливе наукове завдання, спрямованого на корекцію наслідків інфравезікальної обструкції та активацію процесів, які сприяють відновленню структурно-функціональних властивостей та реіннервації сечового міхура за рахунок введення біологічно активних композицій з нейротрофічними факторами, отриманих зі спінальних гангліїв (кріоекстракт, кондиційовані середовища від нативної та кріоконсервованої культури клітин). За актуальністю теми, методичним рівнем проведених досліджень, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота Глоби Вячеслава Юрійовича відповідає вимогам,



передбаченим пунктом 10 "Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії" (постанова Кабінету Міністрів України №167 від 06.03.2019 ) та напрямку наукового дослідження освітньо-наукової програми Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за спеціальністю 222 – Медицина, а також Вимогам до оформлення дисертації (наказ № 40 від 12.01.2017), а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри гістології,

цитології та ембріології

Української медичної

стоматологічної академії

доктор медичних наук, професор



Шепітько В.І.



**ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ**  
Начальник відділу кадрів  
З. Г. Бойко