ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук,
професора Бездітка Павла Андрійовича
на дисертаційну роботу Яковець Антоніни Іванівни
«Експериментальне обґрунтування нових методів лікування глаукоми»,
представлену в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 26.613.041
при Національному університеті охорони здоров'я України
імені П. Л. Шупика МОЗ України,
що утворена наказом МОН України №398 від 01.04.2021 року,
на здобуття ступеня доктора філософії
з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина
(наукова спеціальність «Офтальмологія»)

1. Актуальність обраної теми дисертації

Глаукома була і залишається одним з найбільш інвалідизуючих захворювань серед головних причин слабобачення та сліпоти в усьому світі. На сьогоднішній день, за даними досліджень, 78 млн людей хворіють глаукомою, а за прогнозами до 2040 року кількість хворих на глаукому збільшиться до 111,8 млн. В Україні ситуація з поширеністю глаукоми також невтішна. Тривалий безсимптомний перебіг, несвоєчасна діагностика та лікування, і як наслідок – прогресуюча втрата зорових функцій призводять до слабобачення та сліпоти, зниження професійної працездатності та інвалідності по зору, відносять глаукому до соціально-значущих захворювань.

На сьогодні лікування глаукоми залишається надзвичайно складним завданням. Використання гіпотензивної терапії, лазерних та хірургічних методів лікування глаукоми, на жаль, не завжди призводить до зупинки дегенеративного процесу. Саме тому все більшого поширення набуває нейропротекція, яка спрямована на сповільнення та запобігання загибелі нейронів, для підтримки їх фізіологічної функції.

Одним з сучасних підходів у лікуванні глаукоми є клітинна терапія з використанням стовбурових клітин. Однак, дослідження в цьому напрямку поодинокі, без достроковой доказової бази. Крім того, важливий аспект – це правильний та адекватний вибір клітинного типу. Досі залишається нез'ясованим можливість застосування культивованих постнатальних

мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня (мСК-ПНГ) при лікуванні глаукомної оптичної нейропатії.

Таким чином, вивчення нових ефективних методів лікування глаукоми із застосуванням клітинної терапії є актуальним та доцільним на сучасному етапі розвитку офтальмологічної науки. А дослідження впливу культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня на морфо-функціональний стан зорового аналізатора в експерименті з метою підвищення ефективності лікування глаукомної оптичної нейропатії – актуальним науково-практичним завданням сучасної клінічної офтальмології, що визначило мету та завдання дисертаційної роботи Яковець Антоніни Іванівни.

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

Дисертаційна робота є фрагментом планової ініціативно-пошукової НДР кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика «Клінічне та експериментальне обґрунтування, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» №держреєстрації 0116U002821, термін виконання 2016-2020 роки, в якій дисертант була співвиконавцем.

3. Новизна дослідження та одержаних результатів

Розширено наукові знання щодо ефективності використання культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня при експериментальній моделі глаукоми для підвищення ефективності лікування глаукомної оптичної нейропатії.

Вперше визначено вплив культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня при внутрішньовенному, парабульбарному та ретробульбарному введенні на структуру сітківки та зорового нерва при адреналіновій моделі глаукомі. Встановлено, що найбільш виражений позитивний ефект трансплантації культивованих постнатальних мСК-ПНГ на відновлення структури сітківки та зорового нерва при адреналіновій моделі глаукоми спостерігався в групах з парабульбарним і

ретробульбарним введенням клітин. Виявлено зменшення набряку всіх шарів сітківки, відновлення кількості волокон і синаптичних контактів у внутрішньому і зовнішньому сітчастих шарах, нормалізація і відновлення структурної організації зовнішнього та внутрішнього ядерного шару, зменшення набряку та впорядкованість розташування волокон в шарі паличок і колбочок. При парабульбарному введенні культивованих постнатальних мСК-ПНГ зазначено позитивну динаміку до зменшення товщини внутрішнього сітчастого шару сітківки, середнє значення склало 18,2±3,2 мкм, ($p<0,05$) та 15±2,7 мкм, ($p<0,05$); внутрішнього ядерного шару сітківки – 16,7±1,7 мкм, ($p<0,05$) та 13,7±1,1 мкм, ($p<0,05$); зовнішнього ядерного шару сітківки – 40,4±1,6 мкм, ($p<0,05$) та 37,4±1,7 мкм, ($p<0,05$); шару паличок і колбочок – 16,5±0,6 мкм, ($p<0,05$) та 15,8±0,9 мкм, ($p<0,05$), через 1 та 3 місяці після введення клітин відповідно. При ретробульбарному введенні культивованих постнатальних мСК-ПНГ відмічено зменшення товщини внутрішнього сітчастого шару сітківки, середнє значення становило 16,5±2,9 мкм, ($p<0,05$) та 12,5±1,5 мкм, ($p<0,05$), через 1 та 3 місяці відповідно. Для внутрішнього ядерного шару сітківки середнє значення склало 15,4±1,5 мкм, ($p<0,05$) та 11,9±1,3 мкм, ($p<0,05$), зовнішнього ядерного шару сітківки – 39,5±1,2 мкм, ($p<0,05$) та 35,6±0,7 мкм, ($p<0,05$), шару паличок і колбочок –15,9±0,4 мкм, ($p<0,05$) та 15,2±0,7 мкм, ($p<0,05$), через 1 та 3 місяці після введення клітин відповідно.

Введення культивованих потнатальних мСК-ПНГ ініціює прискорення та підвищення якості регенерації зорового нерва, про що свідчить відновлення кількості повноцінних нервових волокон, колонок гліальних клітин, які утворені переважно із олігодендроцитів. Виявлено, що при парабульбарному введенні культивованих потнатальних мСК-ПНГ показник питомої кількісті нервових волокон був достовірно вищий за відповідний показник у групі тварин з моделлю глаукоми без введення клітин на 37,09% (K-W, Dunn's test, $p<0,0001$) та на 53,97% (Tukey's test, $p<0,0001$), через 1 та 3 місяці після введення клітин. При ретробульбарному введенні культивованих потнатальних мСК-ПНГ виявлено

збільшення показника питомої кількісті нервових волокон на 55,42% (K-W, Dunn's test, p<0,0001) та на 50,61% (Tukey's test, p<0,0001), через 1 та 3 місяці після введення клітин у порівнянні з групою тварин без введення клітин. Крім того, при внутрішньовенному введенні культивованих потнатальних мСК-ПНГ показник питомої кількісті нервових волокон був вище на 30,40% (Tukey's test, p=0,0006) через 1 місяць після введення клітин та через 3 місяці не відрізнявся від показника у групі тварин з моделлю глаукоми без введення клітин (Tukey's test, p=0,1910).

Доповнено наукову інформацію щодо змін функціонального стану зорового аналізатора при адреналіновій моделі глаукоми за допомогою визначення зорових викликаних потенціалів на спалах у лабораторних тварин. Встановлено, що адреналінова модель глаукоми у щурів призводить до порушень параметрів зорових викликаних потенціалів на спалах, а саме встановлено збільшення латентного періоду N1 в середньому на 2,0 мс (95% ВІ 1,5 мс – 2,5 мс) (p<0,001) та латентного періоду P2 в середньому на 1,7 мс (95% ВІ 1,1 мс – 2,7 мс) (p<0,001). Крім того, встановлено зменшення амплітуди P1-N1 в середньому на 0,6 мкВ (95% ВІ 0,2 мкВ – 0,8 мкВ) (p<0,05) та амплітуди N1-P2 в середньому на 1,4 мкВ (95% ВІ 0,8 мкВ – 2,1 мкВ) (p<0,05).

Вперше встановлено, що після ретрбульбарного та парабульбарного введення культивованих постнатальних мСК-ПНГ настають зміни надпродукції активних форм кисню в тканині сітківки ока щурів. Встановлено вірогідне зменшення супероксидного аніон-радикала на 48,31% (p<0,05) та гідроксильного радикала на 55,1% (p<0,05) порівняно зі значеннями в групі тварин без введення клітин.

Вперше встановлено позитивну динаміку показників ЗВП при парабульбарному та ретробульбарному введенні культивованих постнатальних мСК-ПНГ. Виявлено зниження латентного періоду за параметром N1 при парабульбарному введенні клітин в середньому на 1,5 мс (95% ВІ 1,3 мс – 1,7 мс) (p<0,05), при ретробульбарному введенні клітин в середньому на 1,75 мс (95% ВІ 1,5 мс – 1,95 мс) (p<0,05) та за параметром P2 при парабульбарному

введенні клітин в середньому на 1,4 мс (95% ВІ 0,95 мс – 2,0 мс) ($p<0,05$), при ретробульбарному введенні клітин в середньому на 2,15 мс (95% ВІ 1,8 мс – 2,5 мс) ($p<0,05$). Виявлено збільшення показника амплітуди P1-N1 при парабульбарному введенні клітин в середньому на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) ($p<0,05$) та при ретробульбарному введенні клітин в середньому на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) ($p<0,05$). Встановлено збільшення показника амплітуди N1-P2 при парабульбарному введенні клітин в середньому на 1,75 мкВ (95% ВІ 1,6 мкВ – 1,85 мкВ) ($p<0,05$) та при ретробульбарному введенні клітин в середньому на 2,1 мкВ (95% ВІ 1,8 мкВ – 2,2 мкВ) ($p<0,05$).

4. Теоретичне значення результатів дослідження

Отримані поглиблені та деталізовані дані щодо патогенетичних особливостей впливу культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня на функціональний стан зорового аналізатора і біохімічний стан сітківки лабораторних тварин та можливостей застосування в лікуванні глаукомної оптичної нейропатії.

5. Практичне значення отриманих результатів

Застосування культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня при адреналіновій моделі глаукоми дозволяють науково обґрунтувати необхідність розробки нових методів лікування глаукомної оптичної нейропатії.

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендації сформульованих у дисертації

Положення, висновки, рекомендації, що містяться у дисертації науково обґрунтовані, вірогідні, логічно витікають із результатів досліджень. Робота виконана на сучасному науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини, сучасних методик та відповідає існуючим вимогам щодо проведення клінічних досліджень. Наукові положення, висновки, рекомендації, які викладені у роботі, одержані на достатньому фактичному матеріалі. Методи статистичного аналізу, використані в роботі адекватні, проведені на сучасному рівні, за допомогою стандартних програм

статистичного аналізу, коректні. Вірогідність отриманих результатів отримана на практиці в основних та групах порівняння. Рисунки і таблиці, які наведені в роботі переконливі. Висновки і практичні рекомендації конкретні, науково обґрунтовані, повністю підтверджуються результатами досліджень.

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

Дисертація викладена українською мовою на 156 сторінках комп'ютерного тексту. Робота містить: анотацію, зміст, перелік умовних позначень, вступ, основну частину, яка складається з викладу матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури, додатків. Дисертація ілюстрована 46 рисунками та 10 таблицями. Список використаної літератури складає 389 робіт, з них 65 – кирилицею, 324 – латиницею, розміщеного за розділами та займає 45 сторінок.

Робота написана у науковому стилі, грамотною літературною мовою. Всі розділи дисертації написані чітко із дотриманням структури роботи відповідно до дизайну дослідження.

У «Вступі» стисло викладена актуальність теми дисертації, сформульовані мета і завдання дослідження, відображена загальна характеристика роботи. Вступ написано за загальноприйнятою схемою. Зауважень не має.

В розділі 1 представлена систематизація можливостей експериментального моделювання глаукоми, викладено дизайн дослідження, матеріали і методи експериментальних, морфологічних, біохімічних, статистичних досліджень. Використані методики цілком адекватні для вирішення поставленої мети та конкретних завдань роботи. Розділ ілюстрований рисунками. Розділ написано чітко. Зауважень немає.

В розділі 2 детально проаналізовано сучасний стан вивчення проблеми глаукоми, проведено аналіз морфологічних та морфометричних змін сітківки та зорового нерва при різних способах введення культивованих постнатальних

мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня. Розділ достатньо ілюстрований таблицями та рисунками. Зауважень до розділу немає.

В розділі 3 представлена методологія визначення змін функціонального стану зорового аналізатора та обґрунтування вибору методу лікування глаукоми. Проведений аналіз змін функціонального стану зорового аналізатора під впливом культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня. Показані зміни показників внутрішньоочного тиску у щурів в ході експерименту, а також зміни показників зорових викликаних потенціалів після адреналінової моделі глаукоми та введення культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня Розділ ілюстрований таблицями та рисунками. Наприкінці розділу наведено резюме та перелік публікацій автора, які відображають його вміст. Зауважень до розділу немає.

В розділі 4 наводяться дані щодо сучасного погляду на патогенез глаукомної оптичної нейропатії. Представлені особливості біохімічного стану сітківки після моделювання глаукоми та введення культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня. Розділ ілюстрований рисунками, наприкінці містить резюме та перелік публікацій автора, які відображають його зміст. Зауважень до розділу немає.

Розділ 5 присвячено аналізу та узагальненню результатів дослідження. Детально систематизовано отримані результати дослідження, проведено їх порівняння з результатами відомих сучасних досліджень з теми дисертації, зроблені конкретизуючі висновки та практичні рекомендації.

Висновки, які наведені в дисертації, повністю відображають зміст роботи, зроблені на основі фактичного матеріалу дисертації та статистичної вірогідності отриманих результатів, відповідають завданням дослідження та свідчать про досягнення поставленої мети.

Всі публікації за матеріалами роботи відповідають вимогам МОН України. В цілому робота виконана та написана на високому методологічному рівні. Принципових зауважень немає.

Після ознайомлення з роботою виникли декілька запитань:

1. Загальновідомо багато різнотипних моделей глаукоми. Скажіть будь-ласка, чому Ви обрали в якості моделі глаукоми при проведенні Ваших досліджень саме індуковану адреналіновим стресом?

2. Як впливає введення культивованих постнатальних мСК-ПНГ на регенерацію зорового нерва і чи можливо застосувати отримані результати в клінічній практиці?

3. Які маркери оксидативного стресу змінювалися в тканинах сітківки щурів найбільш значуще після введення культивованих постнатальних мСК-ПНГ? Ваші дослідження унікальні, чи є ще позитивні кроки закордонних колег у цьому напрямку?

8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

Основні результати дисертаційної роботи викладені у 17 наукових працях. З них 4 статті у виданнях відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», 1 – у періодичному науковому виданні держави, яка входить до Європейського Союзу, з наукового напряму, за яким підготовлено дисертацію (Естонія), 1 – одноосібно, 1 – аналітичний огляд літератури. Крім того, опубліковано 12 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, зокрема 2 іноземних.

9. Особистий внесок здобувача в одержання наукових результатів, що виносяться на захист

Дисертація є особистою науковою роботою здобувача. Вибір теми дисертації, спрямованість дослідження належить науковому керівнику – доктору медичних наук, професору Петренко Оксані Василівні. Мета і завдання дослідження, методологія роботи визначені разом із науковим керівником. Дисертант самостійно провела патентний та інформаційний

пошуки, аналіз наукової літератури з досліджуваної теми. Самостійно проведено моделювання глаукоми в експерименті.

Гістологічні дослідження сітківки та зорового нерва, культури постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня, виконано в лабораторії цитогенетики, морфології і цитології ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» та на кафедрі гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Біохімічні дослідження проведено у відділі фізіології кровообігу Інституту фізіології імені О. О. Богомольця.

Визначення зорових викликаних потенціалів на спалах в експерименті у лабораторних тварин проведено на базі експериментально-біологічної клініки Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика.

Статистичний аналіз отриманих результатів експериментальних досліджень виконано здобувачем самостійно при консультативній допомозі доцента кафедри медичної і біологічної фізики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кандидата фізико-математичних наук В. Г. Гур'янова.

У наукових роботах, опублікованих за темою дисертації в співавторстві, дисертанту належала провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі отриманих результатів. Разом з науковим керівником, професором О. В. Петренко, були обговорені та узагальнені основні наукові положення та оформлені висновки дисертації.

10. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації)

Проаналізувавши матеріали дисертації здобувача ступеня доктора філософії Яковець Антоніни Іванівни на тему: «Експериментальне обгрунтування нових методів лікування глаукоми», не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації. Встановлено,

що при комп'ютерному тестуванні електронної форми дисертації і наявних за її темою публікацій через програму «Anti-Plagiarism» та за допомогою системи StrikePlagiarism в наданих матеріалах дисертації не виявлено порушень академічної доброчесності.

Робота визначається самостійною та може бути допущеною до захисту.

11. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Основні практичні положення дисертації впроваджені в навчальний процес на кафедрах офтальмології: Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Одеського національного медичного університету МОЗ України, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України та на кафедрі оториноларингології з офтальмологією Української медичної стоматологічної академії.

12. Відповідність дисертації спеціальності та профілю спецради

Дисертація Яковець Антоніни Іванівни на тему «Експериментальне обгрунтування нових методів лікування глаукоми» повністю відповідає паспорту спеціальності 14.01.18 – офтальмологія. Дисертація повністю відповідає профілеві спеціалізованої вченої ради.

13. Висновок про відповідність дисертації вимогам, які пред'являються до ступеня доктора філософії

Дисертація Яковець Антоніни Іванівни на тему «Експериментальне обгрунтування нових методів лікування глаукоми» представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина присвячена актуальній проблемі сучасної офтальмології, є закінченою науково-дослідною роботою, яка містить нові положення і нові науково-обгрунтовані результати в галузі офтальмології, що в сукупності розв'язують важливе науково-практичне завдання підвищення ефективності

лікування глаукомної оптичної нейропатії на підставі вивчення впливу культивованих постнатальних мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребеня на морфо-функціональний стан зорового аналізатора в експерименті. Виходячи з актуальності теми, об'єму та рівня досліджень, наукової новизни результатів, теоретичної та практичної цінності отриманих даних, об'єктивності та обґрунтованості висновків, беручи до уваги отримані результати та особистий внесок здобувача, дисертаційна робота Яковець Антоніни Іванівни на тему «Експериментальне обґрунтування нових методів лікування глаукоми», повністю відповідає вимогам п. 10, 11 Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина, затвердженого постановою КМУ від 06.03.2019 року № 167 та Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 року № 40, а її автор, Яковець Антоніна Іванівна, заслуговує на присвоєння ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент:
Завідувач кафедри офтальмології
Харківського національного медичного
університету МОЗ України
доктор медичних наук, професор **П. А. Бездітко**