

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Шупика Олександра Васильовича** на тему **«Морфофункціональні зміни в ушкоджених тканинах ока тварин та активність репаративних процесів за впливу стовбурових клітин»** представленої на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин

Актуальність теми

Не викликає сумніву, що використання досягнень біотехнології для підвищення ефективності лікування тварин від хвороб очей різного походження є одним із найперспективніших завдань ветеринарної науки і практики. За даними А. Й. Мазуркевича та інших (2013; 2019), якісно новим вирішенням проблеми репаративних процесів у оці тварин є використання диференційованих чи недиференційованих клітин автологічного або алогенного походження, отриманих з використанням клітинних технологій. На сьогодні у літературних джерелах (Nasulov D. U. et al., 2014; Galanga B. et al., 2018) наведено результати експериментальних досліджень щодо лікування тварин за різних патологічних станів ока у тварин шляхом трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин в ділянку пошкодження. За даними багатьох науковців, застосування мезенхімальних (стромальних) стовбурових клітин у ветеринарній медицині за патології ока у тварин базується на достатній науково-методичній базі (Ковпак В. В., 2010; Харкевич Ю. А., 2012; Журба В. І., 2013; Малюк М. О., 2016; Бокотько Р. Р. і Савчук Т. Л., 2019; Fasmusson I., 2010; Salaminejad M. B., 2017). На сьогодні, розроблені методи відбору кісткового мозку, жирової тканини, амніотичної оболонки у тварин і виділення з них фракції моноклеарних клітин з високою проліферативною активністю дають змогу як найшвидше отримати необхідну кількість мезенхімальних стовбурових клітин та використати їх з метою стимуляції репаративних процесів у патологічно змінених тканинах ока та органах тварин. Встановлено, що останні, завдяки своїм імуномодуючим

властивостям і здатності диференціюватися у багатьох напрямках, є найперспективнішим джерелом клітинного матеріалу.

Проте, залишаються недостатньо вивченими питання клінічного використання стовбурових клітин за патології ока. Крім того, не з'ясовано особливості реакції організму реципієнта на введення алогенних клітин, не визначено дози та шляхи їх введення в кожному конкретному випадку, показання та протипоказання до їх застосування, відсутні результати використання тканин-трансплантатів, зокрема амніотичної оболонки, з високим вмістом мезенхімальних стовбурових клітин.

У зв'язку з цим, дисертаційна робота Шупика Олександра Васильовича на тему «Морфофункціональні зміни в ушкоджених тканинах ока тварин та активність репаративних процесів за впливу стовбурових клітин» у якій проведено детальні дослідження біологічних властивостей мезенхімальних стовбурових клітин залежно від умов їх отримання, зберігання та використання їх для стимуляції репаративних процесів у тканинах ока тварин за різних видів патології ока є актуальним завданням та має не тільки теоретичне, а й практичне значення для галузі ветеринарної медицини.

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

Тема дисертаційної роботи є складовою частини науково-дослідної роботи кафедри хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка Національного університету біоресурсів і природокористування України за темою «Розробити нові способи стимуляції процесів відновлення ушкоджених тканин опорно-рухового апарату домашніх тварин методами клітинної терапії» (номер державної реєстрації 0118U000307, 2018–2020 рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень.

Метою та завданням дисертаційної роботи було виявити динаміку морфофункціональних змін у тканинах ока тварин за експериментального ушкодження тканин очного яблука та за різних видів патології спонтанного походження. Дослідити вплив трансплантованих алогенних мезенхімальних стовбурових клітин і амніотичної оболонки, а також їх продуктів, на активність

відновлювальних процесів ушкоджених чи патологічно змінених тканин очного яблука, залежно від способу застосування та порівняти ефективність цього методу клітинної терапії із методами традиційного лікування.

Досягнення мети дисертант отримав шляхом чітко поставленими та сформульованими пунктами наукових задач стосовно наукової тематики.

Наукова робота виконана згідно вимог та на достатній кількості тварин. При цьому дисертантом застосовано різноманітні та сучасні методи досліджень: клінічні (огляд тварин, тест Шиммера, біомікроскопія щілинною лампою, офтальмоскопія, флюорисциновий тест Зейделя, тонометрія, сонографія), гістологічні (виготовлення та фарбування зрізів, мікроскопія), імунологічні, фотофіксація, статистичні.

Дослідження, виконані дисертантом, проведено з дотриманням норм біологічної безпеки та принципів біоетики.

Застосовані методики у дисертаційній роботі відповідають завданням, поставленим перед дисертантом і дають можливість провести дослідження методично правильно і грамотно, цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики.

Висновки наукової роботи, пропозиції виробництву повністю обґрунтовані і відповідають отриманим результатам власних досліджень дисертаційної роботи.

Наукова новизна дисертаційної роботи.

Науковою новизною дисертаційної роботи Шупика Олександра Васильовича було на основі комплексних досліджень з'ясувати та дослідити морфофункціональні зміни тканин ока за експериментального кератиту/увеїту кролів та з'ясувати активність відновлювальних процесів за впливу алогенних мезенхімальних стовбурових клітин і амніотичної оболонки.

У науковій роботі дисертанта у результаті проведеного комплексного аналізу уперше досліджено характер морфофункціональних змін тканин ока у кролів за експериментального кератиту/увеїту та активність відновлювальних процесів під впливом алогенних мезенхімальних стовбурових клітин та амніотичної оболонки.

Згідно наукових досліджень, дисертантом вперше використано в доклінічних випробуваннях ефективність застосування алогенних мезенхімальних стовбурових клітин та амніотичної оболонки для лікування кератиту/увеїту спонтанного походження.

Крім того, Олександром Васильовичом вперше порівняно ефективність різних способів трансплантації алогенних мезенхімальних стовбурових клітин та вперше в Україні використано розроблений автором комплексний метод моделювання експериментального увеїту, який дає змогу отримувати модель кератиту/увеїту з типовими для них змінами в тканинах ока дослідних тварин.

Доведено, що трансплантація алогенних мезенхімальних стовбурових клітин для лікування кератитів/увеїтів не викликає імунної відповіді з боку організму тварини-реципієнта, що засвідчує безпечність використання алогенних (донорських) клітинних і тканинних матеріалів з лікувальною метою.

Дисертантом встановлено, що застосування хірургічної техніки біологічного покриття та застосування екстракту гомогенізованої амніотичної оболонки у формі гелю дає змогу досягти найвищих результатів у відновленні патологічно змінених поверхневих шарів рогівки за кератиту у кролів і собак, про що свідчить повна епітелізація поверхні рогівки ока та зникнення клінічних і морфологічних ознак запальної інфільтрації вже на 30 добу.

Наукова новизна дисертації підтверджена патентами на корисну модель (номер державної реєстрації 141623) «Спосіб застосування мезенхімальних стовбурових клітин для репаративних процесів ока у собак та котів за різного перебігу увеїту» та «Спосіб відновлення рогівки ока у собак та котів за ерозій, виразок та хімічних опіків, за допомогою амніотичної оболонки» (номер державної реєстрації 139673).

Важливість для науки і народного господарства одержаних автором дисертації результатів, рекомендацій щодо їх використання.

Отримані автором результати наукових досліджень, значно доповнюють та розширюють сучасні знання щодо виявлення морфофункціональних змін в

ушкоджених тканинах ока тварин та активності репаративних процесів за впливу стовбурових клітин.

Отримані дисертантом результати можуть бути використані в експериментальній роботі для подальшого вивчення властивостей алогенних мезенхімальних стовбурових клітин, трансплантованих в організм тварин-реципієнтів, та в клінічній практиці, як один із альтернативних методів лікування тварин за кератитів/увеїтів.

Результати експериментальних досліджень з використання алогенних мезенхімальних стовбурових клітин та амніотичної оболонки для відновлення функціональної здатності ока у тварин за кератиту/увеїту засвідчують позитивний ефект від лікування у собак з кератитами/увеїтами спонтанного походження.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені і використовуються в навчальному процесі та наукових дослідженнях кафедр вищих навчальних закладів України: кафедри хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка і кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України; кафедри нормальної і патологічної анатомії та фізіології тварин Полтавської державної аграрної академії; кафедри нормальної і патологічної фізіології тварин Харківської державної зооветеринарної академії; кафедри фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету; кафедри нормальної і патологічної фізіології тварин Одеського державного аграрного університету; кафедри анатомії, нормальної та патологічної фізіології тварин Сумського національного аграрного університету.

Дисертаційна робота Шупика Олександра Васильовича є завершеною науковою працею, виконаною відповідно до поставленої мети та завдань. Отримані нею результати є високоінформативними та достовірними, оскільки отримані на достатній кількості тварин з використанням ефективних методів досліджень.

Основний зміст дисертаційної роботи викладено на 189 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається з анотації, вступу, 4 розділів,

пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Матеріали дисертації проілюстровані 9 таблицями, 3 схемами та 102 рисунками. Список використаних джерел містить 233 джерела, зокрема 96 латиницею.

Повнота викладання результатів дисертації в опублікованих працях, їх кількість та якість.

Основний зміст за темою дисертаційної роботи опубліковано у 10 наукових працях, з яких 5 статей у наукових фахових виданнях України, у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних, стаття у науковому виданні, включеному до міжнародних наукометричних баз даних Scopus, 2 патенти України на корисну модель, 2 тези наукових доповідей.

Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на науково-практичних конференціях різного рівня: XIV Міжнародному конгресі спеціалістів ветеринарної медицини (Охорона здоров'я дрібних домашніх тварин (м. Бровари, 2016 р.); Міжнародному семінарі з питань аграрної освіти, особливостей підготовки ветеринарних лікарів, основних сучасних проблем ветеринарної медицини у Франції «Дні аграрної освіти і науки Франції в Україні» (м. Київ, 2017 р.); науково-практичній конференції молодих вчених «Стан і перспективи розвитку та інновації в тваринництві, актуальні питання ветеринарної медицини» (м. Новомосковськ, 2018 р.); конференції з підготовки фахівців ветеринарної медицини «Практична складова» (сmt. Немішаєве, 2018 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Кліматичні зміни та сільське господарство. Виклики для аграрної науки та освіти» (м. Київ, 2018 р.); XIX Міжнародному практичному ветеринарному семінарі «Здоров'я тварин» (м. Київ, 2019 р.); XVI Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» (м. Київ, 2019 р.); XVII Міжнародному конгресі спеціалістів ветеринарної медицини «Охорона здоров'я коней» (м. Київ 2019 р.); практичному семінарі щодо здоров'я тварин (м. Ганновер, Федеративна Республіка Німеччина, 2019 р.); міжвідомчих навчально-методичних зборах спеціалістів ветеринарної

медицини, кінологічних підрозділів органів державної влади сектору безпеки та оборони України (м. Хмельницький, 2020 р.).

Особистий внесок у розв'язанні наукової проблеми чи у вирішенні конкретного наукового завдання.

Матеріали дисертаційної роботи є корисними для фахівців ветеринарної медицини. Наукові положення, висновки й пропозиції, сформульовані у дисертації, обґрунтовані, логічно випливають з отриманих результатів.

Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Причому, дисертантом самостійно проведено пошук і аналіз літературних джерел за темою дисертації, виконано увесь обсяг експериментальних досліджень (моделювання експериментального стану ока у кролів, формування груп дослідних тварин для проведення експериментів на лабораторних тваринах; випробування ефективності методу на собаках за хвороб очей спонтанного походження; отримання аlogenних стовбурових клітин і трансплантація їх тваринам-реципієнтам різними шляхами; відбір зразків ока для аналізів), проведено статистичну обробку цифрових показників, підготовлено ілюстративні матеріали.

Визначення мети та завдання роботи, постановка схем дослідів та способи їх вирішення, проведення аналізу одержаних результатів і формулювання висновків здійснено спільно з науковим керівником.

Із результатів досліджень і публікацій зі співавторами за їх згодою використано лише ті результати, які одержано особисто здобувачем. Внесок автора зазначено у наведеному списку опублікованих праць.

Відповідність змісту автореферату основним положенням дисертації. Автореферат дисертації в достатньому обсязі відображає основні положення дисертаційної роботи. Вступна частина, висновки і пропозиції є ідентичними у дисертації та авторефераті.

Загальна оцінка суті дисертації, її цінність та недоліки за змістом та оформленням. Дисертаційна робота Шупика Олександра Васильовича «Морфофункціональні зміни в ушкоджених тканинах ока тварин та активність репаративних процесів за впливу стовбурових клітин» написана згідно вимог

ДАК України: проведена значна наукова та організаційна робота, обрана актуальна тема досліджень, наукові дослідження проведені на високому методичному рівні, що дало можливість отримати цінні наукові результати, які мають теоретичне та практичне значення для фахівців ветеринарної медицини.

Водночас дисертаційна робота Шупика Олександра Васильовича має незначні недоліки, деякі зауваження та побажання:

1. У розділі 1 «Огляд літератури», підрозділі 1.1.1 «Патогенез увеїту та кератиту» (ст. 28) для більш детальної і повної характеризувати розвитку даної патології, необхідно було б надати порівняльну оцінку розвитку захворювань з посиланням на відповідні літературні джерела. Це дало б можливість більш детально охарактеризувати патогенез увеїту та кератиту.

2. У розділі 2 «Вибір напрямків досліджень, матеріали та методи виконання роботи» (ст. 73) дисертантом не вказано посилання на літературні джерела, за якими методами проводили забарвлення гістозрізів гематоксиліном та еозином. Наступне, не вказано марку мікротома для виготовляти гістозрізів, адже виготовити зрізи товщиною 3-5 мкм, про що вказує автор дисертаційної роботи, на звичайному мікротомі, практично не можливо.

3. Розділі 2 «Вибір напрямків досліджень, матеріали та методи виконання роботи» надто обширний, так як займає аж 14 сторінок комп'ютерного тексту. Його можна було б дещо скоротити, і дати лише посилання на авторів літературних джерел, за якими були проведені дослідження.

4. У розділі 3 «Результати власних досліджень», підрозділі 3.1.2 «Особливості зміни мікроскопічної структури тканин ока за експериментального кератиту та увеїту в кролів» підпис до рис. 3. 34 (ст. 98) «Мікроскопічна будова інтактного ока кроля», на наш погляд зроблений не зовсім вдало. Оскільки, на даному рисунку представлена лише мікроскопічна будова рогівки та райдужної оболонки ока, тому назву рисунку, необхідно було б представити як «Мікроскопічна будова рогівки та райдужної оболонки ока інтактного кроля». До того ж, для кращого сприйняття мікроскопічної будови, як наглядний матеріал,

доцільно було б представити рисунок на великому збільшенні. Це стосується і таких рисунків, як за № 3.35; 3.36; 3.37 тощо.

5. У розділі 3 «Результати власних досліджень», підрозділі 3.1.2 «Особливості зміни мікроскопічної структури тканин ока за експериментального кератиту та увеїту в кролів» інколи зустрічаються не зовсім якісний ілюстративний матеріал у вигляді рисунків, таких як 3.42; 3.43; 3.44.

6. У розділі 4 «Узагальнення та обговорення результатів досліджень», для більш повної характеристики щодо морфофункціональних змін в ушкоджених тканинах ока тварин та активність репаративних процесів за впливу стовбурових клітин у дослідних тварин, бажано було б надати більш детальну порівняльну характеристику таких змін на макро- та мікроскопічному рівні у видовому аспекті, з посиланням на відповідні літературні джерела.

7. У роботі інколи трапляються окремі граматичні помилки та невдалі наукові вирази. Наприклад, у розділі «Вибір напрямків досліджень, матеріали та методи виконання роботи» дисертант вказує, що зафарбовані зрізи заводили у канадський бальзам, накривали накривним склом та залишали на ніч підсихати. Виникає питання, чому на ніч, а не на день? Правильно було б вказати термін підсихання у годинах, наприклад впродовж 12-ти годин тощо. Або ж у розділі 3 «Результати власних досліджень», підрозділі 3.1.2 «Особливості зміни мікроскопічної структури тканин ока за експериментального кератиту та увеїту в кролів» на сторінці 102 та 103 дисертант вживає термін «... пошкоджений хвилеподібний епітелій». Нагадую, що згідно морфологічної класифікації хвилеподібного епітелію не існує. Можливо, дисертант мав на увазі, що багат шаровий плоский незроговілий епітелій рогівки ока, у вигляді смужки, мав хвилеподібну чи звивисту будову.

У процесі рецензування дисертаційної роботи, виникли деякі питання:

1. Назвіть методи трансплантації амніотичної оболонки і чи є методи консервації амніотичної оболонки для більш тривалого її зберігання?

2. За якою методикою виготовлялись гістопрепарати рогівки та райдужної оболонки ока, так як його внутрішні тканини надзвичайно ніжні і схильні до руйнування і при виготовленні гістопрепаратів можуть виявлятися різноманітні артефакти, які помилково можна віднести до структурних змін за даної патології ?

Висновок

Вищевикладене дає підстави вважати, що дисертаційна робота Шупика Олександра Васильовича на тему: «Морфофункціональні зміни в ушкоджених тканинах ока тварин та активність репаративних процесів за впливу стовбурових клітин» є самостійно виконаною завершеною науковою працею. За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням вона відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24. 07. 2013 № 567, а її автор Шупик Олександр Васильович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин.

Офіційний опонент, доктор ветеринарних наук,
професор, Заслужений діяч науки і техніки
України, завідувач кафедри анатомії і гістології
Поліського національного університету

Л. П. Горальський

