

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, професора кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України Хари Марії Романівни про дисертаційну роботу Кирика Віталія Михайловича на тему: **«Патогенетичні механізми реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин з урахуванням критеріїв їх якості та ефективності»**, подану на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія (222 – Медицина, 22 – Охорона здоров'я)

### **1. Ступінь актуальності обраної теми.**

З появою клітинних технологій в лікуванні дегенераційних захворювань розпочалася нова ера в медицині. Дане судження підтверджується тим, що попри використання найкращих інструментальних технологій залишається велика кількість захворювань, боротьба з наслідками яких лежить за межами можливостей хірургії та фармакології. Саме з вивченням властивостей стовбурових клітин як донорів необхідних пошкоджених структур різних органів почалася ера оптимізму щодо продовження життя сучасної людини. Разом із тим, існують виправдані застереження та обмеження щодо можливостей та ефективності таких технологій. Адже важливими серед усіх правил лікування є основний закон медицини – не нашкодити. Відомо, що регенераційний потенціал стовбурових клітин дорослого організму вже застосовується у лікуванні понад сотні тяжких хвороб. Висока активність досліджень останніх десятиліть дозволила не лише вивчати, але й на клінічному рівні апробувати можливості цих клітин. Це, в свою чергу, показало вразливі місця даного виду терапії та проблеми використання стовбурових клітин, що вимагає чітких правил та стандартів щодо їх відбору.

З огляду на мету, сформульовані завдання дослідження та відсутність чітких відповідей на питання, поставлені дисертантом, наукове дослідження Кирика Віталія Михайловича на тему «Патогенетичні механізми реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин з урахуванням критеріїв їх якості та ефективності» є актуальним і перспективним.

### **2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.**

Дисертаційна робота виконана в межах планових науково-дослідних робіт ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України»: «Дослідити на моделях тривимірного культивування потенціал до направленого диференціювання мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин різного походження» (№ держреєстрації 0113U000101), «Встановлення регенеративного

потенціалу ендотеліальних клітин-попередників при пошкодженні тканин ішемічного генезу» (№ держреєстрації 0116U000140), «Встановлення регенеративного потенціалу стовбурових клітин міокарда на моделях пошкодження серця у мишей» (№ держреєстрації 0119U000086).

Окремі результати дисертантом отримано в рамках виконання НДР «Встановлення морфофункціональних властивостей мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини в оваріоектомованих мишей різного віку» (№ держреєстрації 0118U100249); проєкту GP/F44/057 «Характеристика субпопуляцій мультипотентних клітин плаценти для потреб регенеративної медицини» по гранту Президента України для підтримки наукових досліджень молодих учених; проєктів № 5977 «Effect of stem cells transplantation on the nervous tissue regeneration in perinatal CNS pathology» та № 6262 «Development of technology for three-dimensional culture of multipotent cells to regenerate tissue after ischemic injury» по грантах Українського науково-технологічного центру; проєкту № 55952 «Розробка критеріїв біобезпеки стовбурових клітин жирової тканини» по гранту Президента України докторам наук для здійснення наукових досліджень. Частина результатів, представлених в дисертаційному дослідженні, увійшли до циклу робіт "Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині", удостоєного Національної премії України ім. Бориса Патона за 2021 р. Дисертант є співвиконавцем вказаних тем.

Робота виконана на належному науково-методичному рівні. Використані автором методи дослідження сучасні, дозволяють вирішити поставлені завдання, а статистичний аналіз забезпечив достовірність отриманих результатів. Усі наукові положення роботи, висновки та практичні рекомендації обґрунтовані та відповідають меті й завданням дослідження.

За темою дисертації опубліковано 33 статті, серед яких 20 – у виданнях, включених до Переліку фахових видань МОН України, 18 індексуються в Scopus, 10 – у Web of Science, 9 із них – у виданнях, віднесених до кuartилів Q1-Q2, та 3 – у виданнях, віднесених до кuartилію Q3 за Scimago Journal & Country Rank або Web of Science, а також 1 розділ в колективній монографії. Апробацію матеріалів дисертації засвідчено в 16 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та конгресів, а також представлено у формі 2 стендових та 13 усних доповідей. За результатами досліджень отримано 5 патентів на корисну модель, оформлено 6 нововведень та зареєстровано 2 технології. Дані про публікацію та апробацію результатів дисертації, а також особистий внесок здобувача в них наведені в додатках.

У працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

### **3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.**

Встановлено, що забезпечення якості соматичних стовбурових клітин із жирової тканини, плаценти, серця та судин потребує врахування відповідності їх морфофункціональних та імунофенотипових характеристик, потенціалу спрямованого диференціювання, проліферативної та клоногенної активності, життєздатності клітин залежно від їх типу, походження, віку донора, технології виділення, умов та тривалості культивування *in vitro*.

Уперше показано переважання проліферативного потенціалу та питомої швидкості приросту популяції клітин культури мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової клітковини над аналогічними параметрами культур кісткового мозку. Доведено, що моделювання дисфункції ніші стовбурових клітин жирової тканини шляхом оваріоектомії мишей молодого віку збільшує час подвоєння популяції, знижує потенціал до колонієутворення та остеогенного диференціювання, а також посилює адипогенез в культурі *in vitro*.

Уперше встановлено, що спрямоване диференціювання трансплантатів мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової клітковини в остеогенному напрямку в умовах тривимірного культивування методом мікромаси сприяє регенерації пошкодженої кісткової тканини шляхом заміщення втрачених структур кістки, а морфологічні показники її відновлення перевищують ефекти трансплантатів мікромаси без попереднього диференціювання.

На моделі критичної ішемії кінцівок у мишей доведено здатність до васкуляризації в організмі реципієнта трансплантатів гідрогелів з карбомеру 974P, заселених мультипотентними мезенхімальними стромальними клітинами жирової тканини, підвищення виживання клітин, покращення перфузії та морфофункціонального стану пошкодженої м'язової тканини та встановлено механізми таких позитивних ефектів. На цій же моделі встановлено відновлення перфузії ішемізованих тканин та покращення гістологічних показників м'язової тканини за рахунок реалізації регенеративного потенціалу ендотеліальних клітин-попередників з аорти.

Уперше показана відмінність морфологічних та імунофенотипічних характеристик прогеніторних клітин, отриманих із вушка передсердя та зі стінок шлуночків, а також вищий проліферативний потенціал перших порівняно з останніми. Встановлено, що збільшення віку донора тканини міокарда супроводжується зменшенням проліферативної та скоротливої активності культур стовбурових клітин серця *in vitro*.

Уперше з'ясовано, що для належної експресії тропоніну I, VEGFR-2 і CD31

*in vitro* необхідна наявність кардіотрофіну, як ростового фактора, та послідовна зміна полі-Д-лізину і фібронектину, як субстратів росту. Дослідження регенераційних ефектів мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин плаценти на моделі ішемічної кардіоміопатії при міграції в осередок пошкодження пригнічує запалення, запобігає апоптозу, покращує морфологічні та функціональні показники міокарда.

Уперше проведене автором пілотне клінічне випробування інтраміокардіальної трансплантації стовбурових клітин плаценти людини в комплексному лікуванні пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією підтвердило безпеку цієї методики та її ефективність щодо відновлення скоротливої функції серця, зменшення симптомів серцевої недостатності.

Усі наукові здобутки автора, наведені в дисертаційній роботі, повністю представлені в опублікованих працях.

#### **4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Сформульовані здобувачем наукові положення роботи базуються на достатньому фактичному матеріалі, виконані із використанням сучасних культуральних, імунологічних, морфологічних, хірургічних та інструментальних методів досліджень, детального статистичного опрацювання цифрових даних, що в цілому дозволило обґрунтувати ряд тверджень, які мають важливе практичне і теоретичне значення. Первинні культури соматичних стовбурових клітин досліджували *in vitro* за морфологічними характеристиками, проліферативною активністю, здатністю до колонієутворення, потенціалом до спрямованого диференціювання; проводили мультипараметричне імунофенотипування клітин методами проточної цитометрії та імуноцитохімії, а також тривимірне культивування в культурі мікромаси та гідрогелі на основі карбомеру 974Р.

Експериментальні дослідження проводили на базі лабораторії клітинних та тканинних культур відділу клітинних та тканинних технологій Інституту генетичної та регенеративної медицини (ІГРМ) ДУ "Національний науковий центр "Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини ім. акад. М. Д. Стражеска НАМН України" з використанням молодих статевозрілих (2-5 міс), старих (14 міс) і новонароджених мишей ліній FVB "дикого типу" з генотипом H-2<sup>q</sup> (n = 211), CBA/Са (n = 51) та FVB-Cg-Tg(GFPU)5Nagy/J (n = 128), трансгенних за геном зеленого флуоресцентного білка (green fluorescence protein – GFP).

Достатня для статистичної обробки кількість спостережень дозволяє вважати отримані результати достовірними. Усі цифрові дані ретельно опрацьовані статистично з використанням методів варіаційної статистики на основі сучасних комп'ютерних програм.

## **5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.**

Автор наукового дослідження продемонстрував високий рівень наукового підходу для досягнення мети, уміння планувати, конкретизувати та вирішувати наукові завдання, володіння та ефективний підбір методик дослідження, алгоритмами сучасних методів дослідження. оригінальний підхід до вирішення поставлених задач. Це дозволяє стверджувати, що поставлені наукові завдання автором виконані на високому методологічному рівні, а Кирик Віталій Михайлович є зрілим науковцем, який повною мірою володіє необхідними компетентностями рівня доктора медичних наук.

## **6. Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження.**

Отримані автором на підставі виконаних досліджень результати дозволяють вирішити важливу проблему сьогодення, яка полягає у встановленні механізмів реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин різного походження з урахуванням їх критеріїв якості та ефективності при різних моделях патологічних станів.

Здійснені автором розробки та впровадження стандартизованих критеріїв комплексної оцінки якості та регенеративного потенціалу клітинних продуктів на доклінічному етапі є базисними в контексті підвищення безпеки та ефективності їх терапевтичного застосування, обґрунтовують доцільність зберігання відповідного матеріалу в кріобанках із метою збільшення доступності клітинних технологій для пацієнтів і зниження вартості лікування.

Результати дисертаційного дослідження мають неабияке прикладне значення, адже розробка клітинних препаратів та новітніх високотехнологічних підходів до застосування клітинної терапії з вагомою ефективністю лежить в основі покращення комплексного лікування пацієнтів з багатьма тяжкими та невиліковними захворюваннями. Подібні роботи піднімають престиж вітчизняної фундаментальної науки і клінічної медицини та сприяють покращенню ефективності надання медичної допомоги, а також зниженню кількості людей з обмеженою працездатністю та показника смертності, зростанню якості та тривалості життя хворих.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в практичну діяльність наукових підрозділів Інституту генетичної та регенеративної медицини ДУ "Національний науковий центр "Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини ім. акад. М. Д. Стражеска НАМН України", ДУ "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України". Відповідні акти впровадження представлені у додатку.

Здобувач на момент виконання наукового дослідження був членом робочих груп МОЗ України з розроблення "Ліцензійних умов провадження господарської діяльності банків пуповинної крові, інших тканин і клітин людини" (Постанова Кабінету Міністрів України №286 від 02.03.2016 р.) та з питань положень Закону України "Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині" від 17.05.2018 р. № 2427-VIII.

### **7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.**

Дисертаційна робота Кирика Віталія побудована та оформлена згідно чинних рекомендацій наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. Дисертація викладена на 400 сторінках, з них основний текст займає 313 сторінок, робота ілюстрована 120 рисунками і 11 таблицями. Список цитованої літератури налічує 416 джерел та оформлений за правилами цитування в галузі медицини Vancouver Style згідно з Додатком 3 до наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації».

Робота містить анотації українською та англійською мовами, список друкованих праць із зазначенням особистої участі здобувача, перелік умовних позначень.

У Вступі чітко сформульовані актуальність роботи, мета та завдання, об'єкт та предмет дослідження, наукова новизна і практичне значення отриманих результатів, наведені дані щодо особистого внеску автора у виконання наукового дослідження, апробації отриманих результатів та публікацій.

Перший розділ «Характеристика та особливості реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин різного походження» (огляд літератури) складається із семи підрозділів, викладений на 64 сторінках. У цьому розділі здобувач проводить аналіз літературних даних, які висвітлюють основні напрямки досліджень із проблеми, яка вивчається. Матеріали розділу викладені в доступній формі з використанням сучасних вітчизняних та зарубіжних наукових джерел, аналіз яких доводить актуальність обраної теми. Проведено критичний аналіз цих джерел стосовно сучасного стану проблеми вивчення механізмів реалізації регенераційного потенціалу соматичних стовбурових клітин різного походження: з жирової тканини та плаценти, ендотеліальних прогеніторів та тканинспецифічних стовбурових клітин міокарда. Особлива увага автора зосереджена на проблемних питаннях контролю якості клітинних препаратів, зокрема щодо старіння стовбурових клітин в організмі *in vivo* та культури *in vitro*.

Другий розділ «**Матеріали та методи дослідження**» викладений на 34 сторінках. У ньому представлено дизайн дослідження, обґрунтовано вибір експериментальних моделей, описано методи виділення та культивування стовбурових клітин різного походження, експериментальні *in vivo* та *in vitro*

моделі ушкодження кісткової, м'язової тканин, міокарда, способи трансплантації стовбурових клітин, методи імуноцитохімії та імуногістохімії, морфологічного дослідження на світловому та електронно-мікроскопічному рівнях, методи функціонального дослідження. Обрані методи дослідження адекватні меті і завданням дослідження, а застосовані методи статистичного аналізу цифрових даних не викликають сумніву у достовірності результатів та висновків роботи.

У **третьому-шостому** розділах автор наводить результати власних експериментальних досліджень з вивчення характеристик та регенераційного потенціалу мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини, плаценти, ендотеліальних клітин-попередників та тканиноспецифічних прогеніторів з міокарда. Ця частина дисертаційної роботи викладена на 138 сторінках, ілюстрована 115 рисунками і 10 таблицями.

Сьомий розділ **«Аналіз та обговорення результатів дослідження»** викладений на 62 сторінках та є традиційним логічним завершенням дисертаційної роботи. У даному розділі дисертант підводить підсумок наведених у роботі результатів дослідження, детально, доказово пояснює найбільш важливі факти і положення, співставляє їх із відомими даними вітчизняної та іноземної літератури, доводить актуальність наукової роботи та показує важливість проведених наукових досліджень, подальшу їх перспективу.

**Висновки** відповідають завданням дослідження, обґрунтовані, конкретні та логічно випливають із суті наукових досліджень та отриманих результатів.

**Список використаних джерел** включає в себе 416 наукових праць (20 – кирилицею, 396 – латиницею), абсолютна більшість яких опублікована впродовж останніх десяти років.

Робота містить чотири додатки, в яких представлені опубліковані наукові праці за темою роботи, відомості про апробацію результатів дослідження та акти впровадження результатів дослідження у навчальний процес, перелік патентів, нововведення та технологій.

## **8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дослідження.**

Дисертаційна робота Кирика Віталія Михайловича на тему: «Патогенетичні механізми реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин з урахуванням критеріїв їх якості та ефективності» має вагомим практичне значення. Сформульована автором на підставі результатів дослідження концепція оцінки критеріїв якості соматичних стовбурових клітин дає підстави для підвищення безпеки та ефективності клітинної терапії при пошкодженнях різних типів тканин та органів. Продемонстровані дослідженнями *in vitro* та *in vivo* позитивні ефекти соматичних стовбурових клітин жирової тканини, плаценти,

міокарда та ендотеліальних прогеніторів на реалізацію регенераційних ефектів кісткової та м'язової тканин, зокрема, кардіопротекторна їх дія, є перспективними щодо більш широкого клінічного застосування.

### **9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача:**

За змістом, структурою та оформленням подана до захисту наукова робота відповідає вимогам, які висуваються до дисертацій на здобуття ступеня доктора медичних наук, принципів зауважень при аналізі роботи не виникло. Зазначені нижче зауваження не є принциповими щодо суті роботи та не зменшують наукової цінності дисертації.

1. Даючи оцінку новизні отриманих результатів, доцільним було б конкретизувати окремі моменти, підкріпивши їх цифровими даними.
2. Розділ «Аналіз та обговорення отриманих результатів», суть якого зводиться до обговорення власних даних в порівнянні з наявними, варто подати у вигляді суцільного тексту без підрозділів.
3. У дисертаційній роботі наявні орфографічні та стилістичні погрішності, кількість яких є незначною.

Окрім того, хотілося б отримати відповіді на такі питання:

1. Які потенційні ризики та обмеження клітинної терапії є актуальними на сучасному етапі розвитку регенераційної медицини?
2. Враховуючи отримані результати та загальносвітову тенденцію домінування серцево-судинних захворювань, які типи стовбурових клітин мають чи матимуть перевагу в лікуванні захворювань серця і чому?
3. При якій патології серцево-судинної системи різного ґенезу (ішемічного чи метаболічного) можна очікувати максимальну ефективність клітинної терапії та чим це пояснюється?
4. Чи можуть антиапоптозні ефекти стовбурових клітин негативно вплинути на морфогенез лікованого органа та викликати небажані наслідки у віддалені терміни?

### **10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.**

На основі експертного висновку про перевірку на наявність академічного плагіату станом на 05.10.2023 року максимальний збіг тестування наданих матеріалів з однією роботою складає 7,8 %, тобто, ознак академічного плагіату не виявлено.

### **11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Кирика Віталія Михайловича на тему: «Патогенетичні механізми реалізації регенеративного потенціалу соматичних стовбурових клітин з урахуванням критеріїв їх якості та ефективності», подана до захисту на здобуття



наукового ступеня доктора медичних наук, є самостійною завершеною науково-дослідною роботою, у якій отримані науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують наукову проблему встановлення механізмів реалізації регенераційного потенціалу соматичних стовбурових клітин різного походження з урахуванням їх критеріїв якості та ефективності при різних моделях патологічних станів.

За актуальністю, науковою новизною та практичним значенням, рівнем проведених досліджень, обґрунтованістю наукових положень і обсягом роботи дисертація повністю відповідає вимогам п. 7 та п. 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 17.11.2021 р. № 1197, щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки), а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки).

Офіційний опонент:

професор кафедри патологічної фізіології

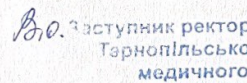
Тернопільського національного медичного університету

Імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

доктор медичних наук, професор

 Марія Хара

Особистий підпис

  
В.о. Заступник ректора з кадрових питань  
Тернопільського національного  
медичного університету



