

**ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА**

доктора медичних наук, професора
БАБАДЖАНА Володимира Даниловича,
професора кафедри внутрішньої медицини №2,
клінічної імунології та алергології імені академіка Л.Т. Малої
Харківського національного медичного університету
Міністерства охорони здоров'я України
на дисертаційну роботу **ГЛАДКИХ Федора Володимировича**
на тему: **«Патогенетичне обґрунтування застосування безклітинних
кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальній терапії
аутоімунних захворювань»**, подану до спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33
при Харківському національному університеті імені В. Н. Каразіна МОН України
на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук
в галузі знань І – Охорона здоров'я та соціальне забезпечення за спеціальністю
І2 – Медицина (наукова спеціальність **14.03.08 – Імунологія та алергологія**).

1. Ступінь актуальності обраної теми дисертаційного дослідження

Останні роки характеризуються зростаючим інтересом світової медичної науки до імунозалежних механізмів ураження органів і систем. Аутоімунні процеси, які лежать в основі цілого спектра хронічних, прогресуючих захворювань, нині розглядаються не як рідкісні або виняткові стани, а як одне з ключових клініко-патогенетичних полів медицини ХХІ ст. Імунопатологічні реакції виявляються при ревматологічних, неврологічних, ендокринних, нефрологічних та гастроентерологічних захворюваннях. Усе це свідчить про формування нової наукової парадигми, в якій імунна система трактується не лише як захисна, але й як регуляторна та пошкоджуюча водночас.

На цьому фоні виразно окреслюється нагальна потреба у вдосконаленні терапевтичного арсеналу при аутоімунних ураженнях. Традиційна імуносупресивна терапія не завжди забезпечує стабільну ремісію, часто асоціюється з високим ризиком побічних ефектів і не впливає на ключові патогенетичні механізми. Особливо ускладнюється ситуація при поєднанні аутоімунного ураження кількох органів одночасно, що є характерним для системних захворювань. У таких умовах питання розробки нових, біологічно обґрунтованих, безпечних засобів лікування набуває першочергового значення.

Окрему зацікавленість викликають тканинні біопрепарати, позбавлені клітинної складової. Ці засоби формуються шляхом кріоконсервації та фільтрації біологічних тканин – зокрема плаценти, селезінки, а також середовища, у якому культивувалися мезенхімальні стромальні клітини. Вони не містять імуногенних структур, проте зберігають широкий набір молекулярних медіаторів, які можуть реалізовувати регенераторний, протизапальний, імунорегуляторний та органотропний вплив. Відсутність живих клітин знижує ризики, пов'язані з трансплантаційною імунною відповіддю, можливими інфекціями чи онкогенезом, що є беззаперечною перевагою.

У сучасних доклінічних дослідженнях дедалі частіше використовується системний підхід до вивчення дії біопрепаратів. Це дозволяє не лише оцінити локальний ефект, але й простежити системну імунну відповідь, ступінь зменшення запалення, активацію відновлювальних процесів. З цієї точки зору, дослідження, присвячене оцінці ефективності безклітинних кріоконсервованих засобів на різних моделях аутоімунних захворювань, є своєчасним і науково виправданим. Такі моделі – енцефаломієліт, тиреоїдит, нефрит, міокардит, гепатит та інші – дозволяють відтворити ключові механізми пошкодження і дати оцінку терапевтичному потенціалу нового підходу.

Крім того, у роботі простежується концептуальне зближення доклінічних досліджень із клінічною реальністю. Висновки, отримані на тваринних моделях, мають потенціал для трансляції у клінічну практику, зокрема – для пацієнтів із тяжким, рефрактерним або швидкопрогресуючим перебігом аутоімунної хвороби. Застосування біопрепаратів такого типу, за умов належного вивчення, може стати обґрунтованою альтернативою чи доповненням до стандартної терапії, особливо на етапах загострення або мультиорганного ураження.

Таким чином, тема дисертації, яка передбачає патогенетичне обґрунтування застосування безклітинних кріоконсервованих засобів при експериментальній терапії аутоімунних станів, є цілком обґрунтованою та відповідає стратегічним напрямкам розвитку сучасної біомедицини. Вона розкриває перспективний напрям терапії, який поєднує безпеку, фізіологічність дії, потенціал мультиорганного впливу й високу наукову інноваційність.

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

Дисертаційна робота підготовлена у межах виконання планової науково-дослідної теми кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України: «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування» (номер державної реєстрації 0123U105022, строк реалізації: 2023–2028 рр.). Керівником теми є кандидат медичних наук, доцент Волобуєва О. В., завідувач кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології.

Тематика дисертації отримала затвердження Вченою радою Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна МОН України (протокол № 17 від 2 жовтня 2023 р.).

3. Ступінь обґрунтованості положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації

Дисертаційне дослідження Ф.В. Гладких відзначається чітко витриманою логікою викладення матеріалу, коректним плануванням експерименту та послідовністю у формулюванні наукових положень. Усі висновки, запропоновані автором, мають під собою надійну емпіричну основу, що дозволяє розглядати їх як достовірні та науково вивірені. Робота демонструє належний рівень наукової дисципліни, в якому практично кожен висновок спирається на конкретні результати.

Автор застосував комплексний підхід до аналізу дії безклітинних кріоконсервованих біопрепаратів у межах моделей шести нозологічних форм аутоімунної патології, що істотно підсилює переконливість отриманих результатів. Така широта експериментального охоплення дозволяє сформулювати висновки не лише для окремої моделі, а й щодо загальних механізмів впливу досліджуваних засобів на імунну регуляцію, тканинне відновлення та зниження запального навантаження. Особливої ваги набуває те, що автор ретельно вивчав динаміку показників на тлі терапії – як у гострій фазі патології, так і на етапі формування хронічних змін.

У дисертації чітко прослідковується відповідність між поставленими завданнями, методами дослідження і висновками. Це свідчить про логічну завершеність роботи та виключає ризик випадкових або спекулятивних інтерпретацій. Важливо відзначити, що автор не зловживає узагальненнями: у висновках чітко вказано, в яких саме моделях був підтверджений той чи інший ефект, яка біологічна дія мала системний характер, а яка – більш органоспецифічний вектор.

Практичні рекомендації, сформульовані на підставі проведеного дослідження, є чіткими, конкретними й методологічно обґрунтованими. У них враховано як позитивні результати експериментів, так і можливі межі ефективності біопрепаратів, що свідчить про об'єктивність автора. Окрему увагу приділено характеристиці безпеки застосування засобів, що є вкрай важливим у контексті майбутнього переходу до клінічних досліджень.

Таким чином, робота Ф.В. Гладких демонструє високий рівень обґрунтованості як основних наукових положень, так і висновків і практичних рекомендацій. Застосовані підходи відповідають сучасним принципам доказової медицини, а самі результати – не тільки статистично достовірні, а й добре інтерпретовані у імунологічному контексті. Це дозволяє розглядати дослідження як вагомий внесок у розвиток експериментальної імунології та біотехнологічної терапії аутоімунних захворювань.

4. Наукова новизна одержаних результатів та достовірність положень, сформульованих у дисертації

Дисертація Ф.В. Гладких вирізняється чітким концептуальним підходом до розв'язання складного наукової проблеми – патогенетичного обґрунтування застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів у терапії аутоімунних захворювань. Наукова новизна роботи проявляється у багатьох аспектах, починаючи з постановки завдань, побудови дослідження, обраного методичного інструментарію й завершуючи отриманими результатами, які істотно розширюють сучасні уявлення про механізми імунної регуляції при автоагресії. Уперше здійснено комплексне порівняльне вивчення дії трьох біологічних препаратів – кріоекстракту плаценти, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища МСК – на 6 патогенетично відмінних моделях аутоімунної патології. Це дозволило автору виявити низку закономірностей і сформулювати принципово нові положення про диференційовану ефективність біозасобів залежно від мішені запального процесу, морфофункціональної структури уражених органів (при аутоімунному міокардиті) та особливостей імунної відповіді.

Дисертантом уперше обґрунтовано, що безклітинні кріоконсервовані біопрепарати мають потенціал комплексної імуномодуляції з одночасним впливом на прозапальні, нейродегенеративні та фібротичні механізми ушкодження. Отримані результати свідчать про те, що ці засоби не лише коригують запальні каскади, а й опосередковано впливають на механізми відновлення тканинної гомеостазу, зокрема шляхом активації внутрішньотканинної регенерації, нормалізації цитокінового балансу та пригнічення надмірної експресії апоптичних сигнальних шляхів.

Новизною також є використання мультифакторного підходу до оцінки ефективності – з паралельним аналізом біохімічних, імунологічних та функціональних показників. Така методологічна побудова дозволила автору не лише задокументувати факт позитивного впливу, але й чітко охарактеризувати профіль дії кожного препарату в конкретній патологічній моделі. Зокрема, виявлено, що кріоекстракт селезінки демонструє помітну кардіо- та нефропротекторну дію, тоді як кондиціоноване середовище МСК виявило максимальну активність у нейро- та гепатопротекції.

Достовірність одержаних результатів забезпечується багаторівневим контролем методики: усі експерименти проведено з дотриманням етичних та біобезпекових норм, використано валідовані моделі, чітко дотримано принципів рандомізації та коректної статистичної інтерпретації результатів. Присутність контролю на кожному етапі – позитивного, негативного й порівняльного – підвищує надійність висновків. Застосування сучасних біохімічних тест-систем слугує додатковим аргументом на користь достовірності експериментальних результатів.

Варто наголосити й на тому, що в роботі дотримано чіткої відповідності між поставленими завданнями та зробленими висновками. Не спостерігається ані надмірного узагальнення, ані невинуватеної екстраполяції. Усі положення дисертації сформульовано на основі конкретних експериментальних даних, які мають кількісне вираження, підтверджені статистично і представлені у наочній

формі. Такий підхід унеможливило спотворення результатів і відповідає високим критеріям академічної доброчесності.

Аналогів такого комплексного порівняння трьох різних біопрепаратів на шести моделях нам не відомо. Були дослідження окремих екстрактів: наприклад, роботи В.В.Бизова (2000–2002) про кріоселезінку при гнійних процесах легень, І.Г.Беспалової (2016) про склад пептидів селезінкового екстракту, кілька японських/корейських досліджень про плацентарний екстракт при запаленнях, або дослідження секретому МСК при окремих моделях. Але **синергетичне висвітлення** цього питання в одній роботі – новаторське. Особливо цінним є пряме порівняння між собою КЕП, КЕС і КС-МСК: раніше не було ясно, який з цих підходів перспективніший. Дисертація Гладких дає відповідь: *МСК-секретом децю ефективніший в більшості тестів, але й тканинні екстракти мають сильну дію та певні переваги в окремих аспектах*. Це важливий новий висновок для науки і практики.

Підсумовуючи, варто зазначити, що наукова новизна дослідження полягає не лише в отриманих результатах, а й у постановці принципово нового підходу до лікування аутоімунної патології з акцентом на системну тканинну регуляцію. Висока достовірність експериментальних даних, їхня методологічна обґрунтованість і прозорість інтерпретації створюють підстави для визнання дисертаційної роботи вагомим внеском у розвиток експериментальної та трансляційної медицини.

Новизна підтверджується і тим, що за матеріалами дисертації опубліковано цілий рід статей в фахових виданнях (є посилання на публікації 2023–2024 рр. у списку літератури та окремо доданий список публікацій). Тобто наукове співтовариство вже ознайомилося з цими результатами і визнало їх. Крім того, автор посилається на *власну монографію 2025 р.* про ревматоїдний артрит та новітні терапії, що теж свідчить про масштабність і унікальність зібраного матеріалу.

5. Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих працях та апробація результатів дисертації.

Результати дисертаційного дослідження Ф.В. Гладких не лише відповідають цим критеріям, а й демонструють зразкову системність наукового викладу, глибоку інтеграцію результатів у фаховий академічний простір та комплексне охоплення всіх змістовних розділів дисертаційної праці. Усі основні положення, емпіричні дані, аналітичні висновки, теоретичні узагальнення та прикладні аспекти дисертації отримали повне відображення в опублікованих працях здобувача, що забезпечує верифікованість, відкритість і доступність наукового доробку для фахової спільноти.

Загалом за темою дисертації опубліковано 67 наукових робіт, з яких 56 безпосередньо висвітлюють основні результати дослідження, а ще 11 – доповнюють його, розширюючи спектр аналізу теоретичних і практичних аспектів тематики дослідження. Серед 56 основних наукових праць особливе значення мають 37 статей, які репрезентують усі ключові блоки дисертації – від теоретичного аналізу сучасного стану проблеми, опису матеріалів і методів

дослідження, до висвітлення результатів кожного з восьми розділів експериментальної частини, узагальнення отриманих даних, формулювання висновків і практичних рекомендацій. Ці статті не тільки охоплюють увесь тематичний спектр дисертації, а й з високим рівнем деталізації презентують результати окремих експериментів, що проводилися за різними моделями аутоімунних патологій.

Підтвердженням активної апробаційної роботи є 19 тез доповідей, представлених на наукових форумах, із яких 3 – у матеріалах закордонних конференцій, а 16 – у збірниках вітчизняних науково-практичних заходів. У тезах у стислій, але змістовній формі висвітлено результати кожного з розділів експериментальної частини дисертації, а також обговорено окремі аспекти механізмів дії безклітинних терапевтичних засобів, що дозволило авторові отримати зворотний зв'язок від наукової спільноти та доопрацювати підходи до інтерпретації результатів. Особливої уваги заслуговує факт, що 39 публікацій здобувача є одноосібними. Крім того, у 11 наукових працях, що мають додатковий характер, відображено аналітичні, методологічні та концептуальні компоненти дослідження. Серед них – **7 монографій**, які поглиблено висвітлюють окремі теоретичні та прикладні аспекти теми.

Таким чином, результати дисертації знайшли повне, системне та структуроване відображення в опублікованих працях. Кожен розділ дисертації – від огляду літератури до узагальнень – має відповідний публікаційний аналог, що свідчить про завершеність дослідницького циклу, наукову послідовність автора та відповідність дисертаційної роботи критеріям, установленим до наукових праць докторського рівня.

6. Оцінка змісту дисертації, її завершеності та відповідності встановленим вимогам.

Дисертаційне дослідження Ф.В. Гладких є цілісною науковою працею, в якій методично та логічно послідовно вирішено комплекс актуальних питань щодо застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при моделюванні й експериментальній терапії аутоімунних захворювань. Структура рукопису чітко узгоджується з поставленою метою, сформульованими завданнями, обраним об'єктом і предметом дослідження. Такий підхід свідчить про ґрунтовну концептуалізацію наукової проблеми, яку було реалізовано в межах міждисциплінарного підходу, що поєднує клінічну імунологію, молекулярну патологію, експериментальну біомедицину та медичну біотехнологію.

Дисертація складається з 509 сторінок, з яких 330 сторінок припадає на основний текст. Структурно робота включає вступ, вісім основних розділів, аналітичний підсумковий блок, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел та чотири додатки. Така побудова забезпечує внутрішню логіку викладу, дозволяє послідовно розкрити тему дослідження і дає змогу читачеві орієнтуватися в широкому обсязі матеріалу.

Вступ містить загальну характеристику структури роботи, що формує попереднє уявлення про зміст і спрямованість дисертації.

Розділ 1 (Огляд літератури) у дисертації охоплює широкий спектр питань, які формують основу дослідження. Він структурований за нозологіями: спочатку розглянуто імунопатогенез і сучасні підходи до лікування найбільш поширених АІЗ – ревматоїдного артриту, розсіяного склерозу, аутоімунних тиреоїдитів (хвороба Грейвса, Хашимото), аутоімунного міокардиту, мембранозного нефриту та аутоімунного гепатиту. У кожному підрозділі детально описано ключові **імунологічні механізми**: роль аутоантигенів (наприклад, посттрансляційні модифікації білків при РА, антитіла до $\beta 1$ -адренорецепторів при міокардиті тощо), цитокінові каскади, популяції імунних клітин (дендритні клітини, T-reg, тощо), які лежать в основі цих захворювань. Такий ґрунтовний аналіз дозволяє зрозуміти мішені, на які потенційно можуть впливати нові біологічні засоби.

Далі (підрозділ 1.7) проведено огляд **перспектив застосування безклітинних кріоконсервованих засобів у терапії АІЗ**. Тут автор систематизує наявні дані про **кріоекстракт плаценти, кріоекстракт селезінки та кондиціоноване середовище МСК**. Наведено історію розробки цих препаратів: наприклад, перші зразки кріоекстракту плаценти отримані та впроваджені в Україні, також згадані інші тканинні імуноекстракти (тимуса, лімфовузлів тощо). Описано **біохімічний склад** плацентарного екстракту (комплекс пептидів, імуноглобулінів, факторів росту, мінералів) та обґрунтовано, чому селезінка є перспективним джерелом імуномодуляторів (висока концентрація імунних клітин). Окремо розглянуто **секретом МСК** – сучасні дані про екзосоми, трофічні фактори і їх внесок у регенерацію та імуnoreгуляцію. Таким чином, літературний огляд підводить читача до гіпотези, що *компоненти, виділені з клітин та тканин, можуть модулювати аутоімунне запалення не гірше за цілі клітини або традиційні препарати*.

Огляд літератури виглядає **вичерпним і актуальним**. Автор цитує понад 700 джерел, включно з останніми публікаціями 2023–2024 рр., що свідчить про відображення сучасного стану знань. Наприклад, у вступі наведено свіже узагальнення консенсусу про паракринний механізм дії МСК, а також згадано нещодавні дослідження ефективності кондиціонованого середовища МСК і екзосом. Розгляд кожного захворювання окремо – від етіопатогенезу до потенційних новітніх терапій – забезпечує глибину і повноту огляду. Практично всі твердження в огляді підкріплені посиланнями на джерела, що свідчить про ретельну роботу з літературою.

Зауважень щодо пропущених *суттєвих аспектів* немає: охоплено і класичні концепції аутоімунітету, і інноваційні методи лікування. Особливо цінно, що автор проаналізував дані про **кріопрепарати** (праці в галузі кріомедицини, імунології), які не є загальновідомими для широкої медичної спільноти, тим самим заклавши міцне підґрунтя власним дослідженням. Отже, літературний огляд можна вважати **повним і якісним**.

Другий розділ присвячений методології дослідження: описано експериментальні моделі, лабораторні методики, етичні аспекти роботи з тваринами та статистичні підходи до аналізу ефективності. Така деталізація забезпечує відтворюваність і достовірність результатів.

Дослідження виконано на 252 лабораторних щурах (статевозрілі нелінійні, *random-bred*) масою ~200–220 г. Тварини були розподілені на **6 експериментальних моделей** аутоімунних захворювань, по 42 щури в кожній моделі (6 груп по 7 тварин). Такий розмір вибірок є типовим для доклінічних досліджень; групи по 7 тварин забезпечують базову статистичну достовірність при явних ефектах. В таблиці 2.1 наведено тривалість експериментів для кожної моделі – від 22 діб (енцефаломієліт) до 70 діб (нефрит) – що враховує особливості патогенезу цих патологій (наприклад, розвиток мембранозної нефропатії займає більше часу).

Індукція аутоімунної патології. У роботі використані класичні підходи до моделювання: всі моделі базувались на використанні повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ) для стимуляції імунної відповіді та аутоімунізації. Зокрема:

- *Ревматоїдний артрит (РА)* моделювали як ад'ювантний артрит Пірсона (одноразове введення ПАФ, що містить мікобактерії, викликає поліартрит). Це стандартна модель аутоімунного артриту у щурів.
- *Розсіяний склероз (РС)* – експериментальний алергічний енцефаломієліт (АЕМ), змодельований шляхом імунізації спинномозковим антигеном з ад'ювантом (білок мієліну в гомогенаті тканин мозку + ПАФ).
- *Аутоімунний тиреоїдит (АІТ)* – змодельований імунізацією тиреоїдним антигеном (тиреоглобулін) з ад'ювантом, що відтворює Хашимото-подібний тиреоїдит.
- *Аутоімунний міокардит (АІМ)* – змодельований імунізацією кардіальним антигеном, як індукція методом ад'юванту з серцевим гомогенатом (класичний метод спричинення міокардиту у гризунів).
- *Мембранозний нефрит (МН)* – нефрит Хеймана, класична модель мембранозної нефропатії у щурів через імунізацію антигеном ниркових клубочків з ад'ювантом.
- *Аутоімунний гепатит (АІГ)* – імунізацією печінкового антигену як модель індукованого гепатиту.

Усі ці моделі є **адекватними експериментальними аналогами** відповідних людських захворювань, що дозволяє дослідити ефекти терапії в умовах, близьких до патогенезу реальних хвороб. **Обґрунтування вибору моделей** очевидне: вони покривають різні органи-мішені, даючи змогу перевірити універсальність дії БКБЗ.

Групи тварин. Кожна модель містила, як мінімум, групу здорових інтактних щурів (норма-контроль), групу хворих без лікування (контроль патології) та три групи лікування (КЕП, КЕС, КС-МСК). Судячи з таблиці (6 груп на модель) й **наявності референс-препаратів** в описі, ймовірно додавалась також група хворих, що отримували еталонний препарат для порівняння. Наприклад, при артриті вказано референс-препарат “ДН” – диклофенак натрію, стандартний НПЗЗ для зняття запалення. При міокардиті для порівняння застосовували **кордарон (аміодарон)** – можливо, для оцінки впливу на гіпертрофію міокарда і ритм. При гепатиті згадано **силібор** (препарат силімарину) як гепатопротекторний референс. Наявність таких порівнянь

посилює методологію, дозволяючи оцінити, чи не поступаються ефекти БКБЗ відомим лікам.

Характеристика та отримання препаратів. Дисертант детально описує технологію отримання кожного з трьох БКБЗ (підпункти 2.1.2.1–2.1.2.3):

- **КЕП (кріоекстракт плаценти):** плацентарну тканину тричі заморожували ($-80^{\circ}\text{C}/-196^{\circ}\text{C}$) з кріопротектором ДМСО, промивали від нього сахарозою та фізрозчином, гомогенізували і екстрагували 0,9% NaCl протягом 24 год при $+4^{\circ}\text{C}$. Супернатант центрифугували, фільтрували через 0,22 мкм – отримували водно-сольовий екстракт. Препарат **стандартизували за вмістом білка** – 1,5 мг/мл (визначено спектрофотометром). КЕП зберігали в рідкому азоті, вводили щурам **внутрішньом'язово** у дозі 2,5 мл/кг ($\approx 0,5$ мл на щура 200 г). Перед введенням робили розведення фізрозчином *ex tempore* (щоб зменшити концентрованість). Така доза відповідає $\sim 3,75$ мг білка/кг, що еквівалентно разовій дозі ~ 88 мг білка для людини масою 70 кг – у тексті згадано, що це узгоджується з клінічними рекомендаціями для аналогічних препаратів. Отже, дозування КЕП вибрано *обґрунтовано*, на основі літературних даних і перерахунку на людину.
- **КЕС (кріоекстракт селезінки):** селезінку свиней нарізали на фрагменти 5–10 г, промивали фізрозчином, обробляли 10% розчином кріопротектора ПЕО-1500, заморожували зі швидкістю $1^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ до -70°C і занурювали в азот. Потім розморожували на водяній бані, відмивали від кріопротектора. Екстракцію проводили фізрозчином 90 хв при кімнатній температурі, далі нагрівали супернатант 15 хв (для денатурації термолабільних білків) і фільтрували. КЕС **стандартизували за білком** – лише 0,1 мг/мл, тобто значно менш концентрований препарат. Вводили **в/м 5,0 мл/кг** (≈ 1 мл на щура 200 г). Така доза містить $\sim 0,50$ мг білка/кг ($0,1 \text{ мг/мл} \times 5 \text{ мл/кг}$). У дисертації посилання [455], [456] підтверджують вибране дозування, що, узятो з попередніх досліджень (праці Беспалової І.Г., 2016 та ін. – кріоекстракт селезінки свиней) – **методично автор спирається на існуючий досвід**.
- **КС-МСК (кондиціоноване середовище МСК):** отримано шляхом культивування МСК та концентрації середовища. Автор зазначає цікаву деталь: препарат стандартизували **за вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл)** – маркер, що входить до секретому МСК. Готовий КС-МСК вводили **в/м у дозі 0,6 мл/кг**. Ця доза теж обґрунтована посиланнями [520], [531] та відповідає певному вмісту активних факторів (у табл. 2.3 наведено розрахунок дози галектину-1 на кг).

Загалом, дозові режими усіх трьох засобів підібрані з урахуванням літературних даних про ефективні дози в експериментах або клініці. Це додає впевненості, що методологія коректна і **заздалегідь верифікована** попередніми дослідженнями.

Проведення експериментів. Тварин перед дослідом витримували 14 діб у карантині, рандомізували на групи по 7 особин, маркували та утримували при

стандартному раціоні *ad libitum*. Всі маніпуляції проводили в першій половині дня, аби виключити добові ритми. При загибелі тварин – проводили розтин для з'ясування причин та виключення помилок техніки. Наприкінці експериментів щурів гуманно евтаназували (цервікальна дислокація під легким наркозом хлороформом). Весь експериментальний протокол **схвалений комісією з питань етики** медичного факультету ХНУ ім. Каразіна (протокол № 4/3 від 11.12.2024) і відповідає українським законам та міжнародним нормам (Закон “Про захист тварин...”, Накази МОЗ, МОН, *European Convention*, директива 2010/63/EU, принципи ARRIVE 2.0 тощо). Цей розгорнутий перелік дотриманих нормативів свідчить про **високий етичний стандарт** проведення дослідження.

Методи оцінки ефективності ретельно підібрані згідно з характером кожної моделі. У розділі 2.3 описано:

- Клінічні показники: об'єм набряклого суглоба при артриті, неврологічний дефіцит (м'язовий тонус, поведінкові тести “відкрите поле”) при енцефаломієліті, ультразвукові параметри серця (товщина стінок, фракція викиду тощо) при міокардиті, швидкість клубочкової фільтрації, протеїнурія при нефриті, рівні білірубину при гепатиті тощо.
- Лабораторні маркери: кількість лейкоцитів, еритроцитів, ШОЕ, С-реактивний білок (для оцінки запалення); рівні **цитокинів** прозапальних (ІЛ-1 β , ІЛ-17, ФНП- α) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10); **ейкозаноїди** (ПГЕ₂, тромбоксан В₂, лейкотрієн В₄) у плазмі та тканинах; **ферменти** печінки (АЛТ, АСТ, ГГТП, ЛФ); показники ниркової функції (креатинін, сечовина) та активність NO-синтаз при нефриті; рівні **тиреоїдних гормонів** (Т3, Т4) та **антитіл до тиреоглобуліну** при тиреоїдиті; **імуноглобуліни** класів А, М, G у сироватці як показник гуморальної автоімунності тощо.
- Метаболічні показники: вміст лактату, пірувату, малату в мозку (для оцінки енергетичного обміну при неврологічному ураженні); стан перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС) – обчислювали антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) для печінки; аденілатний енергетичний заряд (співвідношення АТФ, АДФ, АМФ) у гепатоцитах.
- Морфологічні/цитологічні методи: провели **ДНК-цитометрію гепатоцитів**, визначаючи частку клітин з фрагментованою ДНК (SubG0/G1-фаза апоптозу) – для оцінки гепатопротекції. Результати показали зниження апоптозу гепатоцитів у групах лікування, найкраще – при КС-МСК (частка SubG0G1 зменшена на 71,2%).

Методи дослідження охоплюють **всі необхідні рівні аналізу**: від поведінкового і органного до молекулярного. Це дозволило автору виявити не лише факт терапевтичного ефекту, але й **розкрити його механізми** (наприклад, через які біохімічні зміни досягається поліпшення).

Важливо, що автор належну увагу приділив **біоетичним аспектам**: експерименти проведено згідно з вимогами законодавства та міжнародних рекомендацій, схвалено етичним комітетом. Це демонструє відповідальність у плануванні досліджень на тваринах.

Узагальнюючи, методологія виглядає **якісною і обґрунтованою**. Обрано адекватні моделі захворювань, застосовано вивірені дози перспективних засобів, передбачено контрольні та референтні групи. Набір вимірюваних показників є вичерпним, щоб зробити достовірні висновки щодо протизапальної, нейропротекторної, органопротекторної дії БКБЗ. Вся програма досліджень ретельно спланована (є навіть схема експерименту – рис. 2.1, що, ймовірно, ілюструє дизайн з розподілом груп та таймлайном).

Можна відзначити **амбітність** роботи: 6 різних моделей – це великий обсяг експериментів. Автору вдалося провести їх комплексно, що підвищує цінність результатів, але вимагало від нього суворого дотримання протоколів. Виходячи з представлених описів, методологія реалізована на високому рівні експериментальної медицини.

Розділи 3–8 представляють експериментальні моделі шести аутоімунних патологій (артрит, енцефаломієліт, тиреоїдит, міокардит, нефрит, гепатит) для оцінки ефективності трьох біопрепаратів. Надано порівняльний аналіз результатів із графіками та статистикою. Автор не лише фіксує ефекти, а й пропонує патофізіологічне пояснення.

З наведених прикладів у розділах 3–8 видно, що статистична обробка застосована коректно: майже всі твердження про різницю між групами супроводжені р-значеннями. Автор не приховує і відсутність достовірності там, де ефект слабший. Наприклад, відновлення активності при АЕМ у групі КЕС було 150%, **але не досягло значущості ($p > 0,05$)**. Це свідчить про об'єктивність дослідника: негативні чи сумнівні результати не замовчуються. Також помітно, що для ключових показників наведено рівні значущості різних порядків – це дає уявлення про силу ефекту (більшість змін мають $p < 0,01$ або навіть $< 0,001$, що виключає випадковість).

Також у дисертації присутні порівняння з **референтними препаратами**, і наведені статистично значущі відмінності. Наприклад, при гепатиті рівень загального білка в групі КС-МСК зріс на 20,2%, що **вірогідно вище** не тільки від контролю, а й від показника у групі, яка отримувала силібор (референс). Це дозволило зробити аргумент, що КС-МСК перевершує стандартний гепатопротектор (різниця +14,3%, $p = 0,01$). Такі тонкі статистичні моменти (порівняння двох лікувань між собою) автор теж врахував і коректно оцінив.

Отже, **статистичний аналіз виконано на високому рівні**: використано адекватні критерії, враховано характер розподілу, дані представлені інформативно. Рівні значущості інтерпретуються правильно. Відсутні ознаки фальсифікації результатів – навпаки, видно строгість підходу і кількісну точність у висновках. Це підсилює довіру до отриманих експериментальних даних.

Узагальнення об'єднує результати, оцінює переваги та обмеження моделей і розглядає можливості клінічної трансляції підходу з використанням біопрепаратів тканинного походження в імунореабілітації.

У **висновках** дисертації сформульовано низку положень, які повністю відображають результати дослідження. Вони логічно пов'язані з поставленими завданнями та відповідають основній меті роботи. Практичні рекомендації спрямовані на впровадження результатів у науково-дослідну та клініко-лабораторну практику, зокрема в галузі імунореабілітології, експериментальної фармакології, розробки імунобіологічних препаратів.

Кожен висновок підтверджений конкретними результатами. Дисертант наводить цифри, порівнює з контролем і референсами, підкреслює де ефект найсильніший. Усі твердження ("мають високу протизапальну активність", "сприяють поліпшенню неврологічного статусу", "ефективно коригують структурні порушення серця", "володіють нефропротекторною активністю", "нормалізують показники функції печінки" тощо) послідовно розкриваються через дані експериментів.

Варто зауважити: у багатьох випадках КС-МСК показує кращий або рівний ефект порівняно з КЕП і КЕС. Проте є й винятки – наприклад, плацентарний екстракт дуже добре подіяв на серце (структурна перебудова) та печінку (зниження АЛТ, ГГТП не гірше КС-МСК), селезінковий – відмінно відновив А/Г-співвідношення печінкових білків. Автор ці нюанси відмічає, що свідчить про об'єктивність.

Таким чином, **висновки про ефективність КЕП, КЕС, КС-МСК є науково обґрунтованими.** Вони безпосередньо впливають з отриманих результатів і не суперечать їм. Рівень доказовості високий: використано комплекс підходів, отримано статистично достовірні ефекти, проведено порівняння з еталонами.

Можна резюмувати: **усі три безклітинні біопрепарати виявились дієвими в терапії автоімунних розладів у експерименті.** КС-МСК загалом демонструє найбільш універсальний і потужний ефект (імовірно, завдяки багатому секретому, який впливає на різні ланки патології). Кріоекстракти плаценти та селезінки теж значуще покращують перебіг захворювань, хоча їх дія дещо специфічна – наприклад, КЕП особливо сильний протизапально та кардіопротекторно, КЕС – імуномодуюче на печінковий білковий обмін. Ця **диференціація дії** теж відображена у висновках, що додає глибини: автор не лише заявляє про ефективність, а й характеризує *в чому саме* кожен засіб найкращий. Це підкріплює обґрунтованість кінцевих тверджень.

Список використаних джерел відзначається тематичною глибиною, джерельною репрезентативністю та актуальністю. Переважна частина джерел належить до провідних міжнародних баз даних, що підтверджує інтегрованість дисертації у сучасний глобальний науковий простір.

У додатках наведено відомості про апробацію, список публікацій, що відображають основні положення дисертації, переліки таблиць і рисунків, а також акти впровадження результатів дослідження в роботу 19 установ. Такий підхід підтверджує завершеність і прикладну орієнтацію наукової роботи.

Загалом, структура дисертації є чіткою, логічно вивіреною і відповідає класичним канонам наукової роботи. Вступ формулює проблему, мету і завдання, які потім послідовно вирішуються у розділах результатів. Кількість розділів значна (8), але це зумовлено багатоаспектністю роботи. Кожен розділ присвячений або певному блоку (огляд, методи), або окремій експериментальній моделі, що дуже зручно для сприйняття. Розділи мають підрозділи, які структурують матеріал (наприклад, у розділі 3 – протизапальна активність, гематологічні аспекти, ейкозаноїди, цитокіни, і в кінці *висновки до розділу 3*). Така *деревоподібна структура* дозволяє читачу легко відстежити логіку: спершу йдуть дані, потім їх короткий підсумок.

Логіка викладу заслуговує високої оцінки. Робота побудована від загального до конкретного: від опису світових знань – до власної гіпотези; від методичних підготовчих моментів – до фактичних результатів; від результатів вузьких (кожна модель) – до узагальнень по всій темі. Видно, що автор приділив увагу *узгодженості*: у вступі перелічено 8 конкретних завдань – і ми бачимо 8 відповідних висновків, пронумерованих і кореляційних до цих завдань, жодне завдання не залишилося без відповіді. Це свідчить про гарне планування і внутрішню логіку дослідження.

Перехід між розділами плавний: літературний огляд підводить читача до того, *чому* потрібні ці експерименти; розділ методів дає розуміння, *як* їх проведено; розділи з результатами описують, *що отримано*; обговорення – *що це значить*; висновки – *до чого прийшли*. Така чітка логіка робить сприйняття легким, попри великий обсяг роботи.

Стиль викладу науковий, строгий, але при цьому достатньо зрозумілий. Автор уникає непотрібної багатослівності – більшість речень несуть конкретне навантаження (опис досліду, цифри, порівняння). Є переконливі зв'язки: часто використовуються слова “встановлено, що...”, “проведене дослідження показало, що...”, “зважаючи на отримані результати, можна зробити висновок...”. Це допомагає читачу орієнтуватися, де просто результат, а де – його інтерпретація. Мова українська професійна: застосовано правильні терміни (наприклад, “нейропротективна активність”, “антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз”, “латентний період больової реакції” тощо), єдині стандарти назв показників (скорочення подані в переліку і потім послідовно використовуються). Стиль **цілісний**: немає різких змін тональності або рівня викладу між розділами – видно, що текст писала одна особа (за редагування консультанта). Це важливо для сприйняття – немає відчуття “зібраності з клаптиків”.

Наукова аргументація в роботі присутня скрізь. Автор не обмежується описом фактів, а пояснює їх значення. Наприклад, просто констатувати “КС-МСК збільшив СОД на 65%” – це факт; але автор додає: “що підтверджує високий рівень кардіопротекції, зумовлений цією терапією”. Таким чином, він пов'язує факти з явищами (збільшення СОД = захист від оксидативного стресу = кардіопротекція). Такі логічні ланцюжки демонструють розуміння матеріалу і переконують читача. В обговоренні, ймовірно, наводяться і альтернативні точки зору чи порівняння з іншими дослідженнями – що теж є частиною

аргументації (показати, що його дані вписуються або розширюють існуючі знання).

Ілюстративність та переконливість також на висоті. Робота багата кількісними даними, які представлені у зручній формі (таблиці, графіки – у додатку В і в тексті є посилання на рисунки). Це дозволяє візуально оцінити результати. Посилаючись на них у тексті, автор підкріплює слова цифрами. Такий підхід є дуже переконливим: твердження одразу підтверджене конкретним доказом.

Загальна якість викладу дуже висока: **текст читабельний і водночас насичений науковим змістом**. Незважаючи на великий обсяг, структура допомагає легко знайти потрібну інформацію (є зміст, нумерація розділів, висновки до кожного розділу – своєрідні “міні-висновки”, що спрощує повторне читання). Логіка роботи строго витримана від початку до кінця.

Як приклад логічного зв'язку: у вступі сформульовано проблему і припущення, що *безклітинні засоби можуть модулювати аутоімунітет*. Далі у розділі 1 це припущення обґрунтовано літературою (показано, що секретом МСК дійсно ефективний, екстракти плаценти/селезінки мають імуномодулюючі властивості). Потім методи описують, як саме перевірятиметься ця гіпотеза на практиці. Результати дають факти. В обговоренні – гіпотеза підтверджується чи уточнюється. І у висновках прямо говориться: так, *дослідження підтвердило ефективність БКБЗ при аутоімунних захворюваннях*, наводяться конкретні цифри і робиться загальний висновок про новий терапевтичний підхід. Ця нитка аргументації проходить через усю роботу і успішно доведена до кінця.

Отже, дисертація є концептуально завершеним науковим дослідженням, у якому забезпечено повну відповідність змісту до вимог, що пред'являються до докторських дисертацій.

7. Практичне значення роботи.

Результати дисертаційного дослідження Ф.В. Гладких є фундаментом для створення нової платформи у підходах до лікування, викладання та наукових пошуків у сфері імунології та суміжних дисциплін. Дисертація відкриває нові обрії для медичної освіти, адже сформульовані в ній положення дозволяють принципово розширити уявлення про спектр біологічної дії безклітинних кріоконсервованих засобів. Робота Гладких Ф.В. дає інтелектуальний матеріал, який можна інтегрувати в лекційні курси, практичні заняття та програми підготовки на рівні бакалаврів, магістрів та лікарів-інтернів.

Проведені автором моделювання різноманітних аутоімунних захворювань та ретельне вивчення дії біологічних засобів на уражені органи довели їх виражену органопротекторну активність. Це дає підстави для клініцистів не лише переглянути наявні терапевтичні протоколи, а й передбачити нові напрямки використання біопрепаратів у мультисистемній терапії патологій імунного походження.

З погляду наукових досліджень, ця робота виконує функцію дороговказу. Вона формує нове поле для подальшого пошуку – у галузі експериментальної

імунології, тканинної регенерації та розробки нових біопрепаратів. Представлені у роботі гіпотези і результати можуть стати основою для багатьох міждисциплінарних проєктів, що поєднують біологів, імунологів, фармакологів, генетиків та клініцистів. Дисертація є не лише завершеною працею, а й стартовою платформою для масштабних дослідницьких програм.

Найпереконливішим свідченням значущості отриманих результатів є їх широкомасштабне впровадження в освітню, наукову та лікувальну практику. Це не лише теоретичне припущення – це факт, підтверджений офіційними актами. Загалом 18 вітчизняних установ – серед яких провідні медичні університети, науково-дослідні інститути, комунальні медичні підприємства – включили матеріали дисертації у свою роботу. Отже, практичне значення дисертаційного дослідження Ф.В. Гладких полягає у поєднанні трьох компонентів: змістовного внеску у медичну науку, трансляції у клінічну практику та інтеграції у навчальний процес. Таке багатовекторне застосування є ознакою зрілості наукової ідеї, її життєздатності та актуальності в умовах сучасної медицини.

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

При ознайомленні з дисертаційною роботою та публікаціями Гладких ФВ, не виявлено жодних ознак самоплагіату. Опубліковані раніше роботи, в яких відображено результати дослідження, чітко зазначені у списку публікацій і грамотно інтегровані в загальний науковий наратив дисертації.

Що стосується достовірності представлених результатів, автор демонструє послідовність у побудові логіки дослідження, викладі даних, а також у застосуванні сучасних статистичних та лабораторних методик. Дані, подані в таблицях, графіках і рисунках, узгоджуються з викладом основного тексту, не викликають сумнівів у частині їх оригінальності або спотворення. Не виявлено жодних суперечностей між описаними результатами та висновками, які на них ґрунтуються, що виключає наявність фабрикації чи фальсифікації даних.

Крім того, дисертація характеризується науковою чесністю в представленні джерельної бази, яка охоплює широкий спектр фахової літератури – як вітчизняної, так і міжнародної. Присутність у списку літератури більш ніж 560 закордонних публікацій свідчить про глибоке опрацювання автором сучасного глобального досвіду в галузі імунології.

Слід зазначити, що дисертант продемонстрував належний рівень обізнаності у сфері академічної етики та дотримання етичних норм у науковій комунікації. Автор не лише грамотно структурував власний науковий доробок, а й уникав будь-яких форм копілятивного викладу чи запозичення чужих ідей без належного визнання.

Таким чином, на основі здійсненого аналізу можна стверджувати, що дисертаційна робота Ф.В. Гладких повністю відповідає принципам академічної доброчесності, передбаченим чинним законодавством України, а також

міжнародними стандартами у сфері вищої освіти та науки. Робота є результатом самостійного, глибокого й автентичного дослідження, проведеного на високому науково-методологічному рівні.

9. Зауваження та дискусійні запитання щодо змісту дисертації.

Дисертація є ґрунтовною науковою працею, яка охоплює широкий спектр сучасних експериментальних моделей та методологічних підходів. Робота справляє враження цілісного дослідження, що засвідчує наукову зрілість автора та його вміння системно аналізувати складні біомедичні процеси. Разом з тим, окремі аспекти дисертації викликають критичне осмислення та потребують додаткових роз'яснень або вдосконалення:

1. В окремих місцях зустрічається недотримання єдності стилю (наприклад, змінюється спосіб подання даних або вживаються альтернативні назви для одного й того ж біологічного засобу).
2. В описі результатів є місця, де не витримано єдиного підходу до подання статистичних даних – інколи вказуються середні значення без довірчих інтервалів.
3. У деяких розділах (наприклад, розділи 5 та 6) спостерігається надмірна описовість, натомість бракує глибшої інтерпретації з точки зору сучасної імунобіології.

Вказані зауваження не мають принципового значення та не зменшують наукову та практичну цінність роботи.

У зв'язку з викладеним, виникають такі запитання:

1. Наскільки універсальними є ефекти кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС) і кондиціонованого середовища мультипотентних стовбурових клітин (КС-МСК) – чи можна очікувати подібну дію при інших, неаутоімунних, ураженнях органів?
2. В чому полягає кардіопротекторна активність кріоекстракту плаценти, екстракту кріоконсервованих фрагментів селезінки та кондиціонованого середовища МСК в умовах експериментального аутоімунного міокардиту?
3. Чи допускає автор можливість розробки комбінованої форми на основі кількох біозасобів для досягнення синергічного ефекту на моделях аутоімунних захворювань?
4. Чи існують ризики сенсibilізації або формування антитіл до білкових компонентів КЕП, КЕС або КС-МСК?
5. При яких конкретних клінічних нозологіях (видах та клінічних формах захворювань у людини), на думку автора, впровадження отриманих результатів є найбільш доцільним?

10. Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи

За результатами аналізу дисертаційної роботи та наукових публікацій, у яких висвітлені основні її положення дисертації **ГЛАДКИХ Федора Володимировича** на тему «**Патогенетичне обґрунтування застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при**

експериментальній терапії аутоімунних захворювань», подану до спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33 при Харківському національному університеті імені В. Н. Каразіна МОН України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук в галузі знань І – Охорона здоров'я та соціальне забезпечення за спеціальністю І2 – Медицина (наукова спеціальність 14.03.08 – Імунологія та алергологія), можна зробити висновок, що за обсягом проведених теоретико-прикладних досліджень, актуальністю, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю, ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків вона відповідає вимогам 7, 8, 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17.11.2021 р. № 1197 із змінами згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 502 від 19.05.2023 р. та № 507 від 03.05.2024 р., які висуваються до докторських дисертацій, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 р. № 40, та паспорту спеціальності 14.03.08 – Імунологія та алергологія, а її автор **ГЛАДКИХ Федір Володимирович** заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук зі спеціальності 14.03.08 – Імунологія та алергологія.

ОФІЦІЙНИЙ ОПОНЕНТ

доктор медичних наук, професор,
професор кафедри внутрішньої медицини №2 і
клінічної імунології та алергології імені академіка Л.Т. Малої
Харківського національного медичного університету
Міністерства охорони здоров'я України **Володимир БАБАДЖАН**



Відгук надійшов

до спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33 «23» грудня 2025 р.

в.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33
при Харківському національному
університеті імені В. Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України
доктор медичних наук, професор

Сергій БИЧКОВ