

**ВИСНОВОК ПРО НАУКОВУ НОВИЗНУ,
ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ
ДИСЕРТАЦІЇ**

Надраги Богдана-Степана Олександровича

*«Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні
характеристики ішемії / інфаркту міокарда в експерименті та на
матеріалі автоспій» здобувача ступеня доктора філософії
за спеціальністю 222 «Медицина», галузь знань 22 «Охорона здоров'я»*

Комісія, створена згідно рішення Вченої ради Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол №2-ВР від 22 травня 2020 року) у складі голови комісії та голови фахового семінару з попередньої експертизи дисертації професора кафедри гістології, цитології та ембріології, д.мед.н, професора Яценко Антоніні Михайлівни та рецензентів: професора кафедри патологічної анатомії та судової медицини, д.мед.н., доцента Кузик Юлії Іванівни, завідувача кафедри сімейної медицини ФПДО, д.мед.н., професора Кияка Юліана Григоровича проаналізувала результати виконання здобувачем ступеня доктора філософії Надрагою Богданом-Степаном Олександровичем освітньо-наукової програми, індивідуального плану наукових досліджень, ознайомила з дисертацією та опублікованими науковими працями, які розкривають основний зміст дисертації, заслухала доповідь здобувача та відповіді здобувача на запитання присутніх на фаховому семінарі, який відбувся 25 вересня 2020 р.

Актуальність теми. Значна розповсюдженість, висока смертність та інвалідизація населення внаслідок хвороб системи кровообігу ставлять їх діагностику, профілактику та лікування в один ряд з найбільш актуальними медико-соціальними проблемами. У структурі смертності від серцево-судинних захворювань перше місце посідає інфаркт міокарда. Для глибшого розуміння суті інфаркту міокарда та процесів, що відбуваються у серцевому м'язі при гострому процесі та, відповідно, для розробки більш ефективних методів його профілактики та лікування, доцільними є експериментальні дослідження. Сьогодні існує багато експериментальних моделей інфаркту міокарда. Різниця у механізмах пошкодження і загибелі кардіоміоцитів під дією різних видів несприятливих чинників обумовлює неоднаковий характер реактивних змін як зі сторони паренхіми, так і строми міокарда.

Серед сучасних методів морфологічного дослідження вагоме місце посідають лектини. Це обумовлено тим фактом, що термінальні вуглеводні залишки глікополімерів, які є рецепторами лектинів, формують своєрідний глікокод живого організму, забезпечуючи взаєморозпізнавання та різноманітні форми взаємодії клітин з їхнім мікрооточенням як у процесі ембріонального розвитку, так і функціонування зрілого організму, а також служать підґрунтям для розвитку багатьох патологічних процесів. Мічені лектини були використані для дослідження перебудови вуглеводних детермінант міокарда людини при цукровому діабеті. В експериментах на тваринах методи лектинової гістохімії застосовувалися для морфологічної характеристики процесу рубцювання, розвитку фіброзу постінфарктного серцевого м'яза; ремоделювання лівого передсердя на тлі гіпертрофії і фіброзу; вивчення взаємозв'язку глікому ендотеліоцитів різної локалізації з їхньою проникністю; а також для моніторингу перебудови серцевого м'яза за умов використання стовбурових клітин для його репаративної регенерації.

При достатньо великій кількості публікацій, присвячених лектинової гістохімії серця, перебудова глікорецепторів цього органа в динаміці ішемічної хвороби, інфаркту, та в контексті можливостей прогнозування постінфарктної реабілітації вивчені недостатньо. З урахуванням значної поширеності, великого відсотку смертності від ішемії / інфаркту міокарда, було заплановано і проведено дане експериментальне дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше з використанням світлової та електронної мікроскопії, лектино- та імуногістохімії проведено комплексне дослідження морфофункціональних характеристик епінефрин-індукованої експериментальної ішемії / інфаркту міокарда у щурів. З'ясовано, що підшкірне уведення щурам 0,1% розчину епінефрину в дозі 0,2 мл на 100 г маси тіла обумовлює достовірне підвищення рівня маркерних ферментів некрозу: аспартатамінотрансферази у 3,5 разів, лактатдегідрогенази – у 2,7 разів, креатинфосфокінази – у 2,3 рази. Встановлено, що формування лейкоцитарно-еритроцитарних тромбів у поєднанні з підвищенням адгезивних властивостей судинного ендотелію, утворенням еритроцитарних складів, порушенням морфології та звуженням просвіту судин мікроциркуляторного русла на тлі уведення епінефрину обумовлювало порушення кровопостачання міокарда.

Вперше встановлено, що індуковані епінефрином порушення оксигенації і трофіки міокарда обумовлювало розвиток дистрофічних змін кардіоміоцитів, проявом яких служили вакуолізація і набряк саркоплазми, вкорочення саркомерів та дезорганізація міофібрил, міоцитоліз, руйнування сарколеми і мітохондрій з виходом останніх у міжклітинний простір. У відповідь на зміни некротичного характеру в кардіоміоцитах, у сполучнотканинній стромі міокарда з'являлися макрофаги, нейтрофільні гранулоцити, мастоцити та лімфоцити.

Теоретичне значення отриманих результатів. Ішемія міокарда супроводжувалась редукцією PAS-реактивних субстанцій у складі сарколеми і вставних дисків кардіоміоцитів, накопиченням сульфатованих глікозаміногліканів у складі адвентиційної оболонки судин, перерозподілом вуглеводних детермінант структурних компонентів міокарда. Зокрема, з використанням лектинів було встановлено, що при експериментальній ішемії міокарда відбувається перебудова вуглеводних детермінант структурних компонентів міокарда, зокрема, ендотелію судин мікроциркуляторного русла, формених елементів крові, що може бути важливим діагностичним маркером зміни їхніх адгезивних властивостей та стимулювати тромбоутворення. Лектин CNFA демонстрував підвищену спорідненість до вставних дисків та сарколеми кардіоміоцитів, лектин WGA – до судинного ендотелію щурів. Збільшення числа макрофагів, які ідентифікувалися лектином LABA за умов експериментальної ішемії, свідчить про активацію макрофагічної системи у відповідь на деструктивні процеси у кардіоміоцитах.

Проведені імуногістохімічні дослідження міокарда за умов гострої ішемії продемонстрували певні зміни в експонуванні використаних маркерів (Casp3, Ki67, CD34, VEGF), які проявлялися у перерозподілі імунореактивної цитоплазматичної зернистості скоротливих кардіоміоцитів, змін реактивності ядер та люменальної поверхні ендотеліоцитів. Виявлені зміни поєднувалися з появою у периваскулярних просторах VEGF-позитивних макрофагів. Мастоцити як в умовах контролю, так і досліду демонстрували Casp3/Ki67-імунореактивність цитоплазми.

Практичне значення одержаних результатів. Лектин CNFA рекомендовано до використання в якості маркера вставних дисків між суміжними кардіоміоцитами, лектин WGA – в якості маркера ендотелію гемокапілярів міокарда щурів. Збільшення числа макрофагів, що маркувалися лектином LABA, свідчить про

активацію макрофагічної системи за умов експериментального інфаркту міокарда. Продемонстрована доцільність використання лектинів RCA та WGA для виявлення сполучнотканинних і гемоциркуляторних елементів міокарда людини, а також для дослідження динаміки постінфарктних кардіосклеротичних змін. У порівнянні з рутинними гістологічними методами лектини більш вибірково виявляли елементи сполучної тканини, судини мікроциркуляторного русла, що дозволяє рекомендувати їх як альтернативу при дослідженні постішемичних та кардіосклеротичних процесів у міокарді.

Проведені імуногістохімічні дослідження міокарда за умов гострої ішемії продемонстрували певні зміни в експонуванні використаних маркерів (Casp3, Ki67, CD34, VEGF), які проявлялися у перерозподілі імунореактивної цитоплазматичної зернистості скоротливих кардіоміоцитів, змін реактивності ядер та люменальної поверхні ендотеліоцитів. Виявлені зміни поєднувалися з появою у периваскулярних просторах VEGF-позитивних макрофагів. Мастоцити як в умовах контролю, так і досліду демонстрували Casp3/Ki67-імунореактивність цитоплазми.

Матеріали дисертації впроваджені і використовуються у навчальному процесі кафедр гістології, цитології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Української медичної стоматологічної академії, Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Обсяг проведених досліджень, обсяг наукового матеріалу, комплекс використаних методів дослідження, оцінка отриманих результатів були достатні для обґрунтування наукових положень дисертації. Сформульовані в дисертації положення базуються на достатній кількості проаналізованих гістологічних препаратів та використанні сучасних гістологічних, лектино- та імуно-гістохімічних, електонно-мікроскопічних досліджень.

При аналізі отриманих результатів здобувачем Надрагою Б.-С.О. використано засоби програмного забезпечення MS Excel, Statistica 8. Достовірність результатів підтверджена достатнім обсягом спостережень та використанням сучасних методів статистичної обробки даних.

Первинні матеріали дисертації перевірені комісією, яка була створена наказом ректора Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького № 3413-з від 08.12.2017 р. «Про склад комісій з перевірки первинної документації науково-дослідних робіт» у складі: голови – д.мед.н., професора Д.О.Добрянського, членів – д.мед.н., професора О.В.Прокопів, д.мед.н., професора О.Л.Личковської. Перевірка первинної документації показала повну вірогідність матеріалів, на вивченні та обробці яких побудована дисертаційна робота. Усі документи оформлені згідно з вимогами, результати досліджень проаналізовані сучасними статистичними методами. Зауважень щодо упорядкування первинної документації немає. При порівнянні узагальнених даних з фактичними матеріалами виявлено їх повну відповідність.

Рукопис дисертації отримав позитивну оцінку при перевірці на відсутність академічного плагіату.

Наукова обґрунтованість базових положень дисертаційної роботи Надраги Б.-С.О. за результатами апробації на фаховому семінарі кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України не викликає сумнівів.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем самостійно проведено опрацювання літературних джерел за темою дисертації, здійснено патентно-інформаційний пошук. Спільно з науковим керівником визначені тема, мета та завдання дослідження. Спільно з працівниками кафедри відтворено експеримент та проведено забір матеріалу для досліджень. Освоєні методи гістологічних, гістохімічних, лектино- та імуногістохімічних досліджень, особисто проведено статистичну обробку результатів визначення рівня ферментів. Спільно з к.біол.н. В.І.Ковалишиним проведено електронно-мікроскопічні дослідження. Усі розділи дисертаційної роботи сформульовані та написані здобувачем з консультативною допомогою наукового керівника. У наукових статтях, надрукованих у співавторстві, автору належить фактичний матеріал і участь здобувача є визначальною.

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 7 наукових праць, з них 4 статті у фахових виданнях України (2 статті у жураналах, що входять в наукометричні бази даних Web of Science), 1 – у іноземному періодичному виданні (Угорщина), 2 роботи опубліковано у матеріалах науково-практичних конференцій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати роботи оприлюднені на:

- 13-й конференції Міжнародного консорціуму з регіонального співробітництва в галузі охорони здоров'я, науки і технологій (RECOOP HST). Загреб, 12-15 квітня 2018 р. (усна доповідь, тези);
- VII конгресі наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України. Одеса, 2-4 жовтня 2019 р. (стендова доповідь, тези);
- XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» Запорізька медична академія післядипломної освіти, Запоріжжя, 2020 р (стендова доповідь);
- Засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького 14 березня 2020 р.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень. Усі експериментальні дослідження та дослідження секційного матеріалу проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 р. з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Матеріали дисертації щодо експериментальних і лабораторних досліджень відповідають нормам біоетики, що засвідчено висновком Комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 23 лютого 2017 р. (протокол № 5) та 11 березня 2020 р. (протокол № 3).

Зауваження до дисертації щодо її змісту та оформлення. За формою та структурою дисертаційна робота відповідає усім вимогам щодо кваліфікаційної наукової праці. Вона оформлена згідно з вимогами МОН України. У ході обговорення дисертації до неї не було висунуто жодних принципових зауважень стосовно суті роботи.

Відповідність дисертації вимогам, що пред'являються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії. Дисертаційна робота Надраги Богдана-Степана Олександровича «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/ інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій» здобувача ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», галузь знань 22 «Охорона здоров'я» (науковий керівник д.мед.н, професор О.Д.Луцик, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького) є завершеною науковою працею у якій наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального медико-соціального завдання – зменшення смертності від інфаркту міокарда шляхом подальшого вивчення і розуміння постішемічних та кардіосклеротичних процесів у міокарді, які виникають при цьому захворюванні. Отримані результати мають наукову новизну, теоретичне і практичне значення для охорони здоров'я і, зокрема, медицини.

Дисертація повністю відповідає вимогам передбаченим п. 10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 р., щодо дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

ВИСНОВОК

Розглянувши дисертацію Надраги Богдана-Степана Олександровича «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/ інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій» та наукові публікації, у яких висвітлено основні наукові результати дисертації, визначивши особистий внесок у всіх зарахованих за темою дисертації наукових публікаціях, опублікованих із співавторами (додаток 1), а також за результатами попередньої експертизи (фахового семінару) кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького вважаємо, що робота є актуальною для сучасної охорони здоров'я, зокрема, медицини. Це самостійна завершена праця, з адекватними метою та завданнями, в якій використані сучасні методи гістологічних та лабораторних досліджень. Дисертаційна робота має наукову новизну, теоретичне та практичне значення для охорони здоров'я. Основні результати дослідження та отримані нові наукові дані, висновки та практичні

рекомендації висвітлені в повному обсязі в наукових публікаціях, які зараховані за темою дисертації. Робота виконана з дотриманням вимог академічної доброчесності. Матеріали дисертації щодо проведення експериментальних і патогістологічних досліджень відповідають нормам біоетики.

Дисертаційна робота Надраги Богдана-Степана Олександровича «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії / інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій» повністю відповідає вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. та оформлена відповідно вимогам наказу № 40 МОН України від 12.01.2017 р., і може бути рекомендована до офіційного захисту в разовій спеціалізованій вченій раді.

Комісія звертається до ректора Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України про подання клопотання до МОН України щодо утворення спеціалізованої Вченої ради для розгляду та проведення разового захисту дисертації Надраги Богдана-Степана Олександровича у навченому нижче складі спеціалізованої вченої ради:

Голова спеціалізованої Вченої ради: завідувач кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, доктор медичних наук, професор Матешук-Вацеба Леся Ростиславівна.

Опоненти:

1. Професор кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, доктор медичних наук, професор Жураківська Оксана Ярославівна;
2. Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету МОЗ України, доктор медичних наук, професор Цигикало Олександр Віталійович.

Рецензенти:

1. Завідувач кафедри сімейної медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, доктор медичних наук, професор Кияк Юліан Григорович;
2. Професор кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, доктор медичних наук, доцент Кузик Юлія Іванівна

Опоненти:

1. Професор кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, доктор медичних наук, професор Жураківська Оксана Ярославівна;
2. Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету МОЗ України, доктор медичних наук, професор Цигикало Олександр Віталійович.

Рецензенти:

1. Завідувач кафедри сімейної медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, доктор медичних наук, професор Кияк Юліан Григорович;
2. Професор кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, доктор медичних наук, доцент Кузик Юлія Іванівна

Голова комісії та фахового семінару
з попередньої експертизи дисертації
професор кафедри гістології, цитології
та ембріології ЛНМУ, д.мед.н., професор



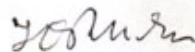
Ященко А.М.

Рецензент: професор кафедри
патологічної анатомії та судової медицини,
д.мед.н., доцент



Кузик Ю.І.

Рецензент: завідувач кафедри сімейної
медицини ФПДО, д.мед.н., професор



Кияк Ю.Г.

Відповідальна за діяльність

разових спеціалізованих вчених рад
з присудження ступеня доктора філософії
у Львівському національному медичному
університеті імені Данила Галицького
МОЗ України, д.фарм.н, доцент



Драпак І.В.

ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Надрага БО, Ковавлишин ВІ, Струс ХІ, Яценко АМ, Луцик ОД. Ультраструктурна організація компонентів міокарда щурів лінії Вістар за умов експериментальної ішемії міокарда. *The scientific heritage*. 2020; 45: 46–54 *(Особистий внесок – аналіз літератури, участь в проведенні експерименту, гістохімічні дослідження лабораторного матеріалу, аналіз результатів)*.
2. Надрага БО, Согомоян ЄА, Яценко АМ, Луцик ОД. Лектини в дослідженні морфології та функції серця. *Світ медицини та біології*. 2018; 1(63): 140–145 *(Особистий внесок – участь в проведенні експерименту, гістохімічні дослідження лабораторного матеріалу, аналіз результатів, підготовка статті до друку)*.
3. Надрага БО, Струс ХІ, Яценко АМ, Жулкевич ІВ, Луцик ОД. Особливості глікому структурних компонентів міокарда щура за умов експериментальної ішемії міокарда. *Світ медицини та біології*. 2019; 3(69): 197–203 *(Особистий внесок – участь в проведенні експерименту, лектиногістохімічні дослідження, аналіз результатів, підготовка статті до друку)*.
4. Надрага БО, Струс ХІ, Яценко АМ, Луцик ОД. Імуногістохімічні дослідження серцевого м'яза щура за умов експериментальної ішемії. *Acta Medica Leopoliensia/Львівський медичний часопис*. 2020; 26(1): 11–20 *(Особистий внесок – участь в проведенні експерименту, гістохімічні дослідження лабораторного матеріалу, аналіз отриманих результатів)*.
5. Надрага БО, Струс ХІ, Яценко АМ, Луцик ОД. Вуглеводні детермінанти глікому структурних компонентів міокарда за умов експериментальної ішемії. Зб. тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України, 2-4 жовтня 2019 р. Одеса, 2019: 264–265 *(Особистий внесок – участь в проведенні експерименту, гістохімічні дослідження лабораторного матеріалу, аналіз результатів, підготовка статті до друку)*.
6. Надрага БО, Яценко АМ, Луцик ОД. Морфофункціональні особливості стінки серця щура при експериментальному інфаркті міокарда. *Морфологія*.

2019; 13(1): 32–37 (*Особистий внесок – брав участь в обробці лабораторного матеріалу, виконав аналіз результатів дослідження*).

7. Nadraga B, Sogomonian E, Yashchenko A, Lutsyk A. Lectins in the investigation of cardiac morphology and function. In: RECOOP 13th Annual Scientific Conference Abstracts. Zagreb, 12-15 April 2018: 114 (*Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь в обробці лабораторного матеріалу, виконав статистичну обробку та аналіз результатів*).