

«Затверджую»

Директор ІНЖІК НАН України
академік НАН України

А. М. Гольцев

« 05 »

2021 р



ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації**

Глоби Вячеслава Юрійовича

**на тему «Застосування кріоконсервованих культур клітин та
нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній
обструкції»**

**на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина**

ВИТЯГ
з протоколу № 4 розширеного фахового семінару відділу
кріоендокринології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини
Національної академії наук України від 2 березня 2021 року

ГОЛОВУЮЧИЙ: д.б.н., проф., г.н.с. Бондаренко Т.П.

БУЛИ ПРИСУТНІ:

співробітники відділу кріоендокринології:

д.м.н., с.н.с., в/о зав. відділу	Легач Є.І. (<i>науковий керівник</i>)
д.б.н., проф., г.н.с.	Бондаренко Т.П.
д.б.н., с.н.с., в/о пров.н.с.	Божок Г.А.
с.н.с., к.б.н., с.н.с.	Алабедацька Н.М.
ст.д., к.б.н., с.н.с.	Пахомов О.В.
к.б.н., в/о с.н.с.	Сидоренко О.С.
к.б.н., н.с.	Устиченко В.Д.
к.б.н., в/о м.н.с.	Трутаєва І.А.
в/о м.н.с.	Дудецька Г.В.
аспірант	Квасова П.А.
аспірант	Побелєнська Л.А.

співробітники інших відділів ІПКіК НАН України:

д.м.н., с.н.с., зав. відділу кріофізіології	Бабійчук В.Г. (<i>рецензент</i>)
с.н.с., к.б.н., с.н.с.	Кудогоцева О.В.
к.м.н., с.н.с., в/о зав. відділу експериментальної кріомедицини	Чиж М.О.
к.м.н., с.н.с.	Ковальов Г.О. (<i>рецензент</i>)
к.б.н., с.н.с.	Белочкіна І.В.
д.б.н., с.н.с., зав. лаб. кріоморфології	Рєпін М.В.
к.м.н., с.н.с., зав. відділу кріомікробіології	Висеканцев І.П.
д.м.н., проф., пров.н.с.	Прокопюк О.С.
к.б.н., с.н.с.	Пахомова Ю.С.
в/о м.н.с.	Ходько О.Т.

Усього було присутньо – 21 особа.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ: Наукова доповідь здобувача Глоби Вячеслава Юрійовича за результатами дисертаційної роботи «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина. Обговорення викладених результатів.

Тему дисертаційної роботи «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції» затверджено на засіданні вченої ради ІПКіК НАН України (протокол № 15 від 26 грудня 2016 року).

Науковим керівником призначено доктора медичних наук, старшого наукового співробітника Легача Євгена Івановича, виконуючого обов'язки завідувача відділу кріоендокринології.

СЛУХАЛИ:

Повідомлення здобувача Глоби Вячеслава Юрійовича за матеріалами дисертаційної роботи «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина.

ВИСТУПИЛИ:

Поставили запитання:

д.м.н., проф. Прокопюк О.С.; д.м.н., с.н.с. Бабійчук В.Г.; д.б.н., проф. Бондаренко Т.П.; к.м.н., с.н.с. Чиж М.О.; к.б.н., с.н.с. Висеканцев І.П.; к.м.н., с.н.с. Ковальов Г.О.; д.б.н., с.н.с. Рєпін М.В.; к.б.н., с.н.с. Белочкіна І.В.; к.б.н., ст.д. Пахомов О.В.

Рецензенти: (1) д.м.н., с.н.с. Бабійчук В.Г., зав. відділу кріофізіології ІПКіК НАН України (*відгук позитивний*);

(2) к.м.н., с.н.с. Ковальов Г.О., с.н.с. відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України (*відгук позитивний*).

Науковий керівник: д.м.н., с.н.с. Легач Є.І., в/о завідувача відділу кріоендокринології ІПКіК НАН України (*відгук позитивний*).

Взяли участь у обговоренні роботи:

д.б.н., проф. Бондаренко Т.П.; к.м.н., с.н.с. Чиж М.О. (*виступи позитивні*).

УХВАЛИЛИ: На підставі попередньої експертизи дисертаційної роботи, доповіді здобувача, запитань присутніх і відповідей здобувача, обговорення

учасниками засідання основних положень дисертації та виступів наукового керівника й рецензентів прийняти такий висновок щодо дисертаційної роботи Глоби Вячеслава Юрійовича «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції».

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Глоби Вячеслава Юрійовича

на тему «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції»

на здобуття наукового ступеня доктора філософії

з галузі знань 22 – Охорона здоров'я

за спеціальністю 222 – Медицина

1. Актуальність теми дослідження.

Порушення уродинаміки внаслідок інфравезікальної обструкції є актуальною проблемою сучасної урології. До інфравезікальної обструкції в зв'язку з доброякісною гіперплазією передміхурової залози схильні більше ніж 50% чоловіків похилого віку. Часткова або повна обструкція виникає у 8 - 10% жінок як ускладнення хірургічного лікування нетримання сечі.

За умов тривалої хронічної обструкції сечового міхура та підвищення уретрального опору відбувається порушення кровообігу, спостерігається ішемія клітин, гіпертрофія детрузора, можливе виникнення запалювальних процесів. Одним з наслідків структурно-функціональної перебудови клітинних шарів є втрата рецепторного апарата та денервація стінки міхура, яка може сягати більш 50% при інфравезікальній обструкції.

На теперішній час реіннервація сечового міхура є актуальним завданням урології, відновлювальної хірургії та тканинної інженерії сечовивідних шляхів. Для вирішення таких завдань застосовуються культури клітин нейрального походження, отримані з різних джерел.

Відомо, що похідні глії здатні виробляти ряд нейротрофічних факторів, які сприяють регенерації нейронів та стимулюють спрямований ріст аксонів нервових клітин. Це є цінним для реіннервації сечового міхура та відновлення пулу нервових закінчень у його стінці, але досі не було проведено досліджень щодо доцільності застосування такого методу в урології.

Кріоконсервування використовують як один з методів збереження біоматеріалу для клітинної терапії та трансплантації. В сучасній медико-біологічній практиці існують протоколи кріоконсервування стовбурових/прогеніторних клітин мозку у вигляді нейросфер. Основними підходами для кріоконсервування нейросфер є використання швидкості

охолодження 1-0,5 град/хв та кріопротектору ДМСО в концентрації 10%. В попередніх дослідженнях, проведених у відділі кріоендокринології, було отримано первинну культуру нейробластоподібних клітин з наднирників новонароджених поросят, яка має здібність до формування прикріплених та флотуючих цитосфер. В подальших роботах було розроблено режими кріоконсервування таких клітин у вигляді суспензії та цитосфер. В теперішній час проводяться наукові роботи по культивуванню та кріоконсервуванню культури клітин спінальних гангліїв та отриманню безклітинних середовищ, які містять нейротрофічні фактори. Однак, на теперішній час не було зроблено спроби застосування культури клітин спінальних гангліїв, секретомів та інших біопродуктів для відновлення рецепторного пула сечового міхура та покращення його скоротливості при інфравезікальній обструкції.

Стимулювати ріст нервових закінчень можливо за рахунок нейротрофічних факторів, введених парентерально або безпосередньо у порожнину сечового міхура. Однак у останньому випадку ефективність методу буде невисокою, оскільки біодоступність введених речовин буде зменшуватися при наповненні міхура сечею, яка є досить агресивним середовищем для багатьох біологічно-активних сполук, та вимиванні речовин в момент наступного сечовипускання.

В даний час існує невелика кількість наукових робіт щодо впливу біологічно активних композицій (кріоекстракту та кондиційованих середовищ нативної і кріоконсервованої клітинних культур), які були отримані зі спінальних гангліїв, на перебіг і наслідки обструкції сечового міхура.

На особливу увагу заслуговує вивчення можливостей отримання, зберігання та використання культур клітин нервового та гліального походження в комбінації з нейротрофічними факторами для покращення іннервації сечового міхура після перенесеної інфравезікальної обструкції.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в рамках відомчої науково-дослідної роботи відділу кріоендокринології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Властивості кріоконсервованих первинних культур клітин ендокринних залоз неонатальних тварин *in vitro* та *in vivo* при трансплантації» (шифр – 2.2.6.104, № державної реєстрації – 0116U003494, 2016-2020, науковий керівник НДР Бондаренко Т.П.), де автор самостійно виконував окремі розділи.

3. Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі Глобою Вячеславом Юрійовичом *вперше* на експериментальній моделі досліджено вплив нейротрофічних факторів, які містяться у секретомативних клітинах нативної і кріоконсервованої культур нервових та гліальних клітин на морфологічні характеристики та уродинамічні показники сечового міхура при інфравезікальній обструкції у щурів. *Вперше* доведена доцільність використання вищеназваних біологічно активних композицій для

відновлення структурно-функціональних показників сечового міхура при даній патології та опрацьований внутрішньочеревний шлях їх введення. *Вперше встановлено* відсутність прямої органоспецифічної дії нейротрофічного препарату «Кортексін» на структурно-функціональні показники сечового міхура при інфравезікальній обструкції у щурів. *Вперше досліджено* вплив кріоконсервування на характер біологічної дії секретів культур клітин спінальних гангліїв на сечовий міхур щурів при інфравезікальній обструкції. *Вперше показана* можливість використання ксено- та аlogenних клітин спінальних гангліїв і отриманих від них нейротрофічних факторів з метою корекції наслідків обструкції. *Вперше встановлена* відсутність прямих нефротоксичних ефектів при використанні біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, у щурів при інфравезікальній обструкції.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації.

Результати дисертаційної роботи Глоби В.Ю. можуть бути використані в науковій та медичній практиці як теоретичне підґрунтя для розробки діагностики і лікування захворювань та патологічних станів, обумовлених різними типами обструкції сечового міхура, а також вони можуть бути використані для читання курсів лекцій і проведення практичних занять для студентів вищих навчальних закладів медичного та біологічного профілю.

В результаті розв'язання поставлених в роботі задач зроблені висновки щодо використання біологічно активних композицій, отриманих зі спінальних гангліїв, з метою нейротрофічної стимуляції для лікування порушень уродинаміки, зокрема викликаних інфравезікальною обструкцією. Одержані наукові результати описують особливості структурних і функціональних змін сечового міхура при патології та за умов впливу ендогенних або екзогенних нейротрофічних факторів. На підставі одержаних даних встановлено ефективність використання безклітинних кондиційованих середовищ та екстракту, отриманих зі спінальних гангліїв, у якості стимулюючих іннервацію факторів для відновлення структури і функцій сечового міхура з метою корекції наслідків інфравезікальної обструкції.

5. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності. Розглянувши звіт щодо перевірки на плагіат, рецензенти дійшли висновку, що дисертаційна робота Глоби В.Ю. «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезікальній обструкції» є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

6. Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертації.

Розглянувши висновок Комітету з біоетики при ІПКіК НАН України (протокол № 1 від 28.01.2021) рецензенти зробили висновок, що проведене дослідження відповідає діючому законодавству України, вітчизняним та міжнародним біоетичним нормам.

7. Єдність змісту роботи, оцінка мови та стилю дисертації.

Дисертаційна робота викладена державною мовою, якою здобувач володіє досконало. Матеріали дисертації викладено з дотриманням норм наукового стилю: точність, ясність, логічність, об'єктивність; між послідовними частинами дисертації наявний чіткий причинно-наслідковий зв'язок. Дисертацію написано з правильним вживанням фахової термінології. Спосіб подання матеріалів дослідження, наукових положень дисертації, висновків та рекомендацій забезпечують доступність їх сприйняття.

8. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації.

Достовірність отриманих теоретичних та практичних розробок визначається детально продуманою логікою досліджень, значним обсягом експериментальної роботи, використанням методів досліджень, а саме: хірургічного методу – для моделювання інфравезікальної обструкції; методу ферментативного виділення клітин – для отримання клітин зі спінальних гангліїв; методів моношарового культивування – для отримання кондиціонованого середовища культури клітин зі спінальних гангліїв; світлової мікроскопії – для вивчення морфологічних особливостей тканини сечового міхура; методу морфометричного аналізу – для кількісного аналізу морфологічних змін у тканині сечового міхура; методу імуногістохімії – для вивчення ступіню інервації тканини сечового міхура; методів математичної статистики – для статистичного аналізу результатів досліджень. Викладене вище переконливо доводить, що наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані Глобою В.Ю., є обґрунтованими і достовірними.

9. Особиста участь автора в одержанні наукових та практичних результатів, що викладені в дисертаційній роботі.

Дисертаційна робота Глоби В.Ю. є самостійним і оригінальним науковим дослідженням. Основні результати роботи отримані здобувачем особисто. Автором проаналізована сучасна зарубіжна та вітчизняна наукова література з досліджуваної проблеми, сформульована мета і визначені завдання роботи, сплановані та проведені експерименти, статистично оброблені та проаналізовані результати. Спільно з науковим керівником здійснено аналіз експериментальних досліджень і їх інтерпретація, сформульовані висновки. Роботи, опубліковані у співавторстві з науковим керівником д.м.н. Легачем Є.І., містять результати спільного планування й обговорення результатів. Опубліковані в співавторстві наукові статті повністю відображають концепцію роботи, підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом завдань.

10. Перелік публікацій за темою дисертації з зазначенням особистого внеску здобувача.

Основні положення та наукові результати дисертаційної роботи опубліковано в 13 наукових працях, серед яких 4 статті у наукових фахових виданнях (з них 1 стаття у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до ЄС/ОЕСР, 1 стаття у фаховому виданні України категорії «А», яке

входить до бази даних Scopus) та 2 статті у інших наукових виданнях), 9 тез доповідей міжнародних і національних наукових конференцій (з них 4 у збірниках матеріалів міжнародних конференцій).

ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях України

1. **Глоба ВЮ**, Бондаренко ТП, Божок ГА, Самбург ЯЮ, Легач ЄІ. Зміна скоротливої активності детрузора щурів з інфравезикальною обструкцією при введенні біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2020; 30 (2): 188 – 198. *(Видання включене до бази Scopus; здобувач проводив експерименти з одержання моделі патології, отримання кріоекстракту зі спінальних гангліїв щурів та первинної культури клітин зі спінальних гангліїв неонатальних свиней, кріоконсервування, відігрів та субкультивування культури, отримання безклітинних середовищ, вивчав вплив біологічно активних композицій на скоротливі властивості детрузора, проводив статистичну обробку результатів, брав участь в обговоренні і узагальненні результатів).*

2. **Глоба ВЮ**, Самбург ЯЮ, Божок ГА, Легач ЄІ. Біохімічні показники крові щурів з інфравезикальною обструкцією при введенні біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори. Медицина невідкладних станів. 2020; 16 (4): 115 – 120. *(Здобувач проводив експерименти з одержання моделі патології, отримання кріоекстракту зі спінальних гангліїв щурів та первинної культури клітин зі спінальних гангліїв неонатальних свиней, кріоконсервування, відігріву та субкультивування культури, отримання безклітинних середовищ, брав участь у підготовці та проведенні біохімічних досліджень, проводив статистичну обробку результатів, брав участь в обговоренні і узагальненні результатів).*

3. **Globa VYu**, Bozhok GA, Legach EI. Morphological Parameters of Bladder Rats with Infravesical Obstruction with the Introduction of Biologically Active Compositions. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2020; 8: 327 – 333. *(Здобувач проводив експерименти з одержання моделі патології, отримання кріоекстракту зі спінальних гангліїв щурів та первинної культури клітин зі спінальних гангліїв неонатальних свиней, кріоконсервування, відігріву та субкультивування культури, отримання безклітинних середовищ, брав участь у підготовці гістологічних препаратів, проводив морфометричний аналіз та статистичну обробку результатів, брав участь в обговоренні і узагальненні результатів).*

4. **Глоба ВЮ**, Легач ЄІ, Глоба ДВ, Глоба ТО, Свірепо ПВ. Експериментальна модель інфравезикальної обструкції: якій віддати

перевагу? Медичний форум. 2020; 21 (21): 12 – 14. *(Здобувач проводив експерименти з одержання моделі патології, вивчав вплив різних методів моделювання на морфофункціональні властивості сечового міхура, проводив статистичну обробку результатів, брав участь в обговоренні і узагальненні результатів).*

Тези наукових доповідей конференцій

5. **Глоба ВЮ.** Сократительная активность и патоморфологические особенности детрузора крыс с моделью инфравезикальной обструкции. The international research and practical «The Development of Medical Sciences: Problems and Solutions»; 2018 April 27 – 28; Brno, Czech Republic, p. 106–9.

6. **Глоба ВЮ,** Божок ГА, Бондаренко ТП, Легач ЕИ. Влияние кондиционированной среды от культуры мантийных глиоцитов на структурно - функциональные характеристики детрузора крыс с инфравезикальной обструкцией. IX Всероссийский съезд трансплантологов; 2018 Сентября 17 – 19; Москва, РФ, с. 167.

7. **Глоба ВЮ,** Рудык ДЮ, Али СГ, Божок ГА, Легач ЕИ. Сократительная активность детрузора крыс с инфравезикальной обструкцией после введения «Кортексина» и биологически активных продуктов культуры мантийных глиоцитов. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2018; 28 (2): 172.

8. **Глоба ВЮ,** Божок ГА, Легач ЕИ. Влияние Кортексина на сократительную активность детрузора крыс с инфравезикальной обструкцией. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини»; 2018 Червня 22 – 23; Львів, Україна, с. 90 – 1.

9. **Глоба ВЮ.** Морфологічні особливості сечового міхура щурів з моделлю інфравезикальної обструкції. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Перспективи розвитку медицини в країнах ЄС та в Україні»; 2018 Грудня 21–22; Влоцлавек, Республіка Польща, с. 106 – 9.

10. **Глоба ВЮ,** Божок ГА, Бондаренко ТП, Легач ЕИ. Биологическая подвижность мочевого пузыря крыс с инфравезикальной обструкцией. XII Всероссийский симпозиум с международным участием «Биологическая подвижность»; 2019 Май 17–19; Пущино, РФ, с. 82 – 4.

11. **Глоба ВЮ,** Божок ГА, Глоба ДВ, Дунаєва ОВ, Легач ЄІ. Вікові особливості скорочувальної активності детрузора щурів. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Фармацевтичні та медичні науки: актуальні питання»; 2019 Квітня 12–13; Дніпро, Україна, с. 6 – 8.

12. **GlobaVYu**, Bondarenko TP, Ali SG, Bozhok GA, Legach EI. Contractile Activity of Detrusor of Rats with Infravesical Obstruction After Introduced Cryoextract of Spinal Ganglia and Biologically Active Products of Mantle Gliocyte Culture. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2019; 29 (2): 164.

13. **Глоба ВЮ**, Бондаренко ТП, Легач ЄІ. Вплив біологічно активних продуктів культури мантийних гліоцитів на морфологічні показники сечового міхура щурів з інфравезикальною обструкцією. 6-й з'їзд Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом; 2019 Червня 18 – 21; Яремче, Україна, с. 54.

11. Рекомендація дисертації до захисту.

ВВАЖАТИ, що дисертаційна робота **Глоби Вячеслава Юрійовича «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції»** відповідає вимогам, передбаченим пунктом 10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України №167 від 29.10.2020 р. із змінами) та відповідає напрямку наукового дослідження освітньо-наукової програми Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за спеціальністю 222 – Медицина, а також Вимогам до оформлення дисертації (наказ № 40 від 12.01.2017 р.).

РЕКОМЕНДУВАТИ:

Враховуючи високий рівень виконаних досліджень, а також актуальність теми роботи, наукову новизну результатів та їх наукове і практичне значення, розширене засідання відділу кріоендокринології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України рекомендує дисертацію **Глоби Вячеслава Юрійовича «Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції»** до захисту в спеціалізованій вченій раді для здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина.

РЕКОМЕНДУВАТИ до складу разової спеціалізованої ради:

Головою спеціалізованої вченої ради призначити доктора медичних наук, професора Компанієць Антоніну Михайлівну, завідувача лабораторією кріопротекторів Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Офіційними опонентами:

1. Доктора медичних наук, професора Шепітько Володимира Івановича, завідувача кафедри гістології, цитології, ембріології ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

2. Доктора медичних наук, доцента Антоняна Ігора Михайловича, завідувача кафедри загальної, дитячої та онкологічної урології Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Результати відкритого голосування:

Присутні – 21

«за» – 21

«проти» – 0

«утрималось» – 0

Рецензент

д.м.н., с.н.с.

зав. відділу кріофізіології



Бабійчук В.Г.

Рецензент

к.м.н., с.н.с. відділу

експериментальної кріомедицини



Ковальов Г.О.

Головуючий на засіданні

д.б.н., проф., г.н.с.

відділу кріоендокринології



Бондаренко Т.П.