

ВІДГУК

офіційного опонента, професора кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету Жураківської Оксани Ярославівни на дисертаційну роботу Надраги Богдана-Степана Олександровича на тему «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.003 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України, що утворена наказом МОН України від 26.11.2020 року №1472 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина».

Актуальність теми дисертації. Ішемічна хвороба серця довгий час вважається головною причиною захворюваності та втрати працездатності серед населення. На сьогодні серцево-судинні захворювання займають лідируючі позиції серед причин смертності як в Україні, так і в світі. Щорічно в Україні реєструється 40-50 тисяч випадків інфаркту міокарда, 20 тисяч з яких потребують екстреного лікування. При цьому статистика смертності від цієї хвороби залишається стабільно високою — від гострого інфаркту міокарда вмирають 30% - 40% пацієнтів, водночас як у країнах Заходу, тільки, 5%. Зважаючи на значну медико-соціальну проблему ішемічної хвороби серця Міністерство охорони здоров'я України в рамках спільного проекту МОЗ України і Світового банку “Поліпшення охорони здоров'я на службі у людей” з 2018 року розпочало інформаційну кампанію про своєчасне безоплатне лікування інфаркту. Статистика по всій країні показує, що в реперфузійних центрах рятують втричі більше життів. Проте летальність від ішемічної хвороби серця ще залишається досить високою

(12,3%), незважаючи на відкриття 41 кардіоцентру в Україні та надання безоплатної допомоги.

Виходячи із вище викладеного дисертація Надраги Богдана-Степана Олександровича на тему «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій» є актуальною і перспективною.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та є частиною комплексної науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології «Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин» (№ державної реєстрації 0117U001076).

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів. Автором уперше показані особливості перерозподілу вуглеводних детермінант глікополімерів – рецепторів лектинів різної вуглеводної специфічності – в міокарді за умов експериментальної епінефрин-індукованої ішемії. Вперше доведено, що лектин CNFA може використовуватись в якості гістохімічного маркера вставних дисків, лектин WGA – в якості маркера ендотеліоцитів мікроциркуляторного русла, а лектин LABA – в якості маркера міофібрил кардіоміоцитів та макрофагів за умов експериментальної епінефрин-індукованої ішемії міокарда щурів. Новими є дані про зміни імунореактивності моноклональних антитіл Ki67, VEGF, CD34 та Casp3 зі структурами міокарда за умов його експериментальної ішемії/інфаркту. Дисертантом уперше встановлено особливості перерозподілу лектинів у міокарді людини на тлі постінфарктного кардіосклерозу.

Практичне значення результатів дослідження. Пріоритетним та інноваційним в плані практичного використання є те, що автор на основі проведених досліджень виявив селективні лектиногістохімічні маркери для

ідентифікації певних структурних компонентів міокарда щурів і людини за умов ішемії/інфаркту. Зокрема, у щурів для ідентифікації міофібрил кардіоміоцитів та макрофагів слід використовувати лектин LАВА, для вставних дисків – лектин CNFA, для ендотеліоцитів мікрогемосудин – лектин WGA, що може бути використано в профільних лабораторіях при тих чи інших експериментальних патологіях серця.

Автором доведено, що у людей доцільно використовувати лектини WGA та RCA в якості гістохімічних маркерів елементів сполучної тканини для кількісної характеристики склеротичних змін у міокарді людини на тлі постінфарктного кардіосклерозу.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджено в науковий та навчальний процес 5 кафедр гістології, цитології та ембріології вищих медичних навчальних закладів України, що підтверджено актами впроваджень.

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

Дослідження виконано на 34 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г (14 контрольних і 20 дослідних). Робота виконана з дотриманням норм біоетики, про що свідчить витяг з протоколу комісії з питань біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 3 від 11.03.2020 р.).

В роботі також використано міокард лівих шлуночків двох чоловіків віком 82 і 78 років, які померли з діагнозом «Післяінфарктний кардіосклероз. Повторний гострий інфаркт міокарда». Контролем слугував міокард чоловіка та жінки віком 46 та 54 роки відповідно, які померли без ознак серцевої патології. Забір матеріалу здійснювали у патологоанатомічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні під час планових автопсій з дотриманням засад біоетики.

Для досягнення мети автор використав комплексний підхід згідно розробленого ним алгоритму дослідження. Використані як класичні, так і

сучасні інноваційні методи дослідження (лектино- та імуногістохімічні), що дозволило отримати об'єктивні, вірогідні і переконливі дані щодо морфофункціональних змін міокарда при його ішемії/інфаркті. Кількість тварин, як в цілому, так і в кожній серії досліджень, була достатньою для того, щоб створити репрезентативні статистичні вибірки кількісних показників, що визначалися. Об'єм фактичного матеріалу власних досліджень достатній для дискусії, обґрунтування наукових положень, гіпотез і рекомендацій науково-практичного використання здобутих результатів.

Мета і завдання, які поставлені для її досягнення, сформульовані чітко і повністю зреалізовані у викладених результатах власних досліджень і висновках.

Дисертант послідовно і логічно виклав отримані результати, підтвердив їх значним обсягом ілюстративного та цифрового матеріалу, який засвідчив достовірність і значущість проведених досліджень. Висновки, які робить автор, логічно випливають з одержаних результатів, відповідають меті і завданням дослідження. Вони науково обґрунтовані, побудовані за змістом дисертації і достатньо чітко висвітлені в наукових публікаціях Б.-С. Надраги.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. Здобувач достатньо висвітлив основні положення своєї дисертації у 7 наукових працях, з яких: 4 статті опубліковано у фахових наукових виданнях України (з них 2 статті у виданні, що входить до переліку бази даних Web of Science), 1 стаття – у закордонному рецензованому виданні держав – членів Європейського Союзу (Угорщина); 2 тези.

Матеріали дисертації пройшли апробацію на 3 наукових форумах: 1 – з міжнародною участю (Загреб, 2018); та 2 – всеукраїнських (Одеса, 2019 та Запоріжжя, 2020).

Оцінка змісту та оформлення дисертації, аналіз її розділів. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 150 сторінках принтерного тексту, оформлена згідно наказу МОН України № 40 від

12.01.2017 р. та включає наступні розділи: анотацію, вступ, огляд літератури, матеріал і методи дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел, додатки. Слід відзначити значний об'єм ілюстративного матеріалу, наведеного в дисертаційній роботі, а саме – 53 мікрофотографії та 24 електронограми, що свідчить про достатню обґрунтованість і достовірність сформульованих у ній наукових положень, висновків і рекомендацій.

В анотаціях, поданих українською і англійською мовами, коротко відображені основні положення дисертаційної роботи.

У вступі чітко сформульовані мета і завдання дослідження, розкриті наукова новизна і практична значущість отриманих результатів. Звертає на себе увагу достатня чисельність публікацій автора за темою дисертації в фахових виданнях (4).

Огляд літератури складається із трьох підрозділів та викладений на 22 сторінках принтерного тексту. У першому підрозділі описані метаболічні, біохімічні та морфологічні зміни в серці і організмі при інфаркті міокарда. У другому підрозділі автор детально описує існуючі експериментальні моделі ішемії міокарда, порівнює їх, наводячи переваги і недоліки, що дозволило йому вибрати і обґрунтувати доцільність використання у своїй дисертаційній роботі саме епінефрин-індуковану ішемію міокарда. У третьому підрозділі автор описує методи лектино- та імуногістохімії, що дозволяють в повній мірі вивчити морфологічні особливості будови структурних компонентів серця в нормі і патології. Підсумовує огляд літератури розширений висновок, який дозволив автору аргументовано сформулювати конкретну наукову задачу, яка має суттєве значення для гістології, накреслити способи її розв'язання з урахуванням сучасних методичних підходів та обґрунтувати доцільність використання епінефрин-індукованої ішемії міокарда та певні лектино- і імуногістохімічні маркери в своїй дисертаційній роботі.

У другому розділі дисертації викладено методику дослідження. У 5 підрозділах на 6 сторінках автор наводить достатньо детальну характеристику експериментальній моделі, матеріалу і методам дослідження.

У розділах 3-7 викладені результати власних досліджень.

У третьому розділі *«Результати визначення ферментів та використання методів загальної морфології для дослідження альтерації міокарда за умов його ішемії»* викладено результати, які детально висвітлюють особливості метаболічних змін, зокрема активності ферментів аспартатамінотрансферази (АСТ), креатинфосфокінази (КФК, фракція МВ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) у сироватці крові щурів з епінефрин-індукованою ішемією міокарда, що дозволило автору задокументувати і підтвердити факт розвитку інфаркта міокарда в дослідній групі тварин. Розділ закінчується узагальнюючим висновком і приведено посилання на публікацію автора, в якій висвітлено матеріал даного розділу.

У четвертому розділі *«Ультраструктурна організація міокарда щурів за умов експериментальної ішемії»* на 15 сторінках подано детальні якісні субмікроскопічні зміни міокарда за умов його епінефрин-індукованої ішемії та документально підтверджено вищеозначені зміни 24 електронограмами. Розділ закінчується узагальнюючим висновком і містить посилання на публікацію автора, в якій висвітлено матеріал даного розділу.

У п'ятому розділі *«Результати використання методів лектинової гістохімії для дослідження впливу експериментальної ішемії на глікорецептори міокарда»* здобувач, використовуючи PAS-реакцію та забарвлення альціановим синім, описує зміни гістотопографії та експонування глікополімерів в міокарді за умов епінефрин-індукованої ішемії. Уперше детально проаналізовано і описано якісні і напівкількісні зміни перерозподілу вуглеводних детермінант – рецепторів лектинів – за умов експериментальної ішемії міокарда, що дозволило автору виділити селективні гістохімічні маркери для певних структурних компонентів

міокарда. Розділ закінчується узагальнюючим висновком і містить посилання на 2 публікації автора, в яких висвітлено матеріал означеного розділу.

У шостому розділі *«Результати використання методів імуногістохімії для дослідження впливу експериментальної ішемії на міокард»* детально описано якісні та напівкількісні зміни імунореактивності моноклональних антитіл (VEGF, CD34, Casp3, Ki67) зі структурними компонентами міокарда за умов експериментальної ішемії та доведено, що найбільш інформативними за даної патології є маркери фактора росту судинного ендотелію (VEGF) та маркера апоптозу (Casp3). Розділ традиційно закінчується узагальнюючим висновком і містить посилання на публікацію автора, в якій висвітлено матеріал даного розділу.

Досить цікавим є сьомий розділ *«Результати вивчення глікорецепторів міокарда людини за умов його ішемії / інфаркту»* в якому описано зміни гістотопографії лектинів WGA, RCA, LABA у міокарді людей на тлі постінфарктного кардіосклерозу та умовно здорових. Матеріали розділу висвітлені у 2 публікаціях автора.

Підсумовує проведені дослідження розділ *«Аналіз та узагальнення результатів дослідження»*, який ґрунтується на співставленні результатів власних досліджень із літературними даними. У цьому розділі здобувач підкреслив новизну і практичну значущість власних даних у порівнянні з результатами інших дослідників. Автор не лише констатує отримані результати, а й робить свої припущення щодо характеру та механізму змін і уміло співставляє або підтверджує ці трактування положеннями інших досліджень. Цей розділ повністю відображає положення, які сформульовані і обґрунтовані автором. Текст розділу викладений на 16 сторінках.

На підставі отриманих даних дисертантом сформульовані 7 висновків, що логічно завершують наукову роботу, відповідають меті та завданням дослідження.

Список літератури налічує 225 джерел, складений у відповідності до вимог наказу МОН України № 40 від 12.01.2017, серед яких 82 роботи

кирилицею та 143 латиницею, більшість наведених робіт опубліковані за останні роки.

Дотримання принципів академічної доброчесності. Слід відзначити високу унікальність (96%) та відсутність плагіату в дисертаційній роботі. Так, при перевірці дисертації на наявність збігів/ідентичності/схожості сервісами перевірки на плагіат Unicheck та Strikeplagiarism за результатами відповідного аналізу звіту перевірки роботи на наявність ознак академічного плагіату, встановлено коректність посилань на першоджерела для текстових запозичень, а виявлені збіги є загальноприйнятими фразами, назвами вузів. Виходячи із вищевикладеного, дисертант є ерудованим грамотним науковцем, який в своїй науковій роботі дотримується основних принципів академічної доброчесності.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є такі зауваження:

1. В анотації список публікацій здобувача за темою дисертаційного дослідження слід наводити дотримуючись вимог пункту 4 розділу III Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. відповідно до пункту 12 Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р.

2. У розділі 2 слід було вказати в якій лабораторії Ви проводили лектино- та імуногістохімічні дослідження.

3. У розділі 2 бажано було навести офіційні документи, що дозволили дисертанту використовувати матеріали автопсій у своїй дисертаційній роботі.

4. У підписах до рисунків варто зазначати морфологічні зміни або патологічні процеси, що на них зображені (рис. 5.1, 5.2 і т.д.).

5. Зазначені у підписах до рисунку позначення не завжди відображають ті структури, що позначені цифрами на самих рисунках (рис. 5.6а, 5.10, 6.1, 6.2, 6.4-6.6, 6.8, 7.1 (б), 7.7). Не всі позначення, зазначені у підписах до рисунків, відображені цифрами на рисунку (рис. 6.7).

6. У додатку до дисертації список публікацій здобувача за темою дисертаційного дослідження слід наводити дотримуючись вимог пункту 13 розділу III Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р.

Проте, ці зауваження не знижують наукової цінності дослідження та його практичної значущості.

У плані дискусії вважаю за доцільне поставити наступні **питання**:

1. Чому у своїй дисертаційній роботі Ви використали різну вікову категорію людей з інфарктом міокарда (чоловіки 78, 82 роки), а контрольну (46 і 54 роки) ?

2. У своїй дисертаційній роботі Ви встановили селективні маркери до певних структурних елементів міокарда, зокрема скоротливих кардіоміоцитів. Чи можете Ви за даними Ваших досліджень або літературних джерел, рекомендувати певні лектини для вибіркового виявлення провідних і секреторних передсердних кардіоміоцитів ?

3. При описі міокарда Ви часто використовуєте термін «м'язові волокна». Дайте детальну морфологічну характеристику цим морфологічним структурам і чим вони відрізняються від м'язових волокон скелетних м'язів?

Висновок.

Дисертаційна робота Надраги Богдана-Степана Олександровича «Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій», що виконана під керівництвом доктора медичних наук, професора О.Д.Луцика є самостійним, закінченим науковим дослідженням, в якому отримані нові науково обґрунтовані дані, які мають велике теоретичне та практичне значення для медицини і в сукупності вирішують важливу наукову задачу – встановлення закономірностей змін експонування вуглеводних детермінант – рецепторів лектинів, імунореактивності моноклональних антитіл та ультраструктурних змін міокарда за умов його інфаркту/ішемії.

На підставі викладеного аналізу стверджую, що дисертаційна робота заочного аспіранта Надраги Богдана-Степана Олександровича

«Морфофункціональні, лектино- та імуногістохімічні характеристики ішемії/інфаркту міокарда в експерименті та на матеріалі автопсій» за актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, використанням сучасних методів дослідження, науковою новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю і достовірністю наукових положень і висновків відповідає пп. 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. із змінами і доповненнями, внесеними постановою Кабінету Міністрів України № 979 від 21.10.2020 р. щодо дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент
 професор кафедри анатомії людини
 Івано–Франківського національного
 медичного університету,
 доктор медичних наук, професор



О.Я. Жураківська

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ	
(ЗАСТУПНИК РЕКТОРА (НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ))	
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ	
_____	_____ 20__ р.
Підпис _____	
Прізвище _____	