

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора Грабового Олександра Миколайовича, професора кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця на дисертацію Фаліон Руслани Ігорівни «Патоморфологічні зміни в перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу» на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина на тему:, що подана до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.038 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України, створеної відповідно до наказу МОН України № 1609 від 19.05.2022 р.

Актуальність теми дисертації. Проблема цереброваскулярних захворювань та їх найважчої форми – мозкового інсульту є однією із самих актуальних соціальних і медичних проблем. Щорічно близько 150 тис. жителів України вперше переносять інсульт, причому понад 35% усіх гострих порушень мозкового кровообігу припадає на людей працездатного віку. Смертність від даного захворювання становить понад половину пацієнтів. Значна частина людей після інсульту стаючи інвалідами не тільки втрачають роботу, а й потребують сторонньої допомоги та значних фінансових затрат на лікування, реабілітацію та догляд.

Важкість стану пацієнтів безпосередньо пов'язана з характером, обсягом та локалізацією морфологічних змін в головному мозку. Це у свою чергу прямо впливає на подальший перебіг захворювання. На сьогоднішній день важливим є профілактика та раннє звертання в профільні стаціонари, оскільки це дає змогу вижити пацієнтам та мінімізувати клінічну симптоматику, а відповідно і післяінсультне відновлення пацієнтів.

Окрім зони некрозу головного мозку спричиненому гострою ішемією, особливу увагу привертають до себе тканини прилеглі до осередка некрозу, які перебуваючи в умовах порушення кровообігу потенційно залишаються життєздатними. Дана зона при своєчасному адекватному лікуванні може відновитись, або ж при відсутності лікування вийти до ядра некрозу.

Дослідження питання своєчасної діагностики, розробки нових методів діагностики та розробки превентивних методів щодо лікування дозволить розширити сучасні уявлення щодо інсульту, дозволить краще розуміти патоморфологічні зміни в оточуючій зоні головного мозку, а отже і вдосконалити методи лікування.

Тому, актуальність проведеного дисертаційного дослідження Фаліон Р.І. не викликає сумніву, є корисним і важливим не лише для морфологів, але й для неврологів та нейрохірургів.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації. Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій, що сформульовані у дисертації, обумовлені адекватно обраними науково-методичними підходами до вирішення поставленої мети і завдань, достатнім обсягом дослідженого матеріалу, використанням адекватних морфологічних методів дослідження із високим рівнем науково-інформаційного супроводу та відповідною статистичною обробкою. В роботі проведено ретроспективний аналіз за 10 років, опрацьовано 9759 автопсій, з яких виокремлено 1092 випадки з гострим порушенням мозкового кровообігу. Також проведено проспективне дослідження 71 автопсійного випадку, яке включало 28 з ішемічним інсультом, 25 з геморагічним інсультом та 18 з ішемічним інсультом із геморагічною трансформацією.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертація є складовою частиною науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького «Вивчення патоморфологічних, етіологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики», № державної реєстрації 0113U000205; 2013-2017 рр.

Новизна дослідження та отриманих результатів. Наукова новизна роботи полягає в тому, що при дослідженні патоморфологічних змін в перифокальній зоні головного мозку при ішемічному інсульті вперше дисертантка встановила поєднання як коагуляційного, так і колікваційного некрозу нейронів головного мозку, також виявила прогресування хронічних змін в головному мозку з перебігом захворювання, що включало ділянки з випадінням нейронів та *сogroga amylosea*. А також визначила морфологічні ознаки компенсаторно-відновлювальних явищ, що супроводжували перебіг захворювання.

Продемонстровано, переважання виявлення нейронів з коагуляційним некрозом при геморагічному інсульті. Інтенсивність процесів відновлення характеризувалася утворенням гліомезодермальної капсули побудованої з запальних клітин, гемістоцитарних астроцитів та проліферуючих капілярів.

Дисертантка встановила, що у перифокальній тканині головного мозку при ішемічному інсульті з геморагічною трансформацією, були як ізольовані, так і поєднані варіанти некрозу нейронів. Також виявила зростання хронічних змін нейронів, *сogroga amylosea* та вогнищ з випадінням нейронів, збільшення вогнищ

гліюзу за обома типами у даній групі ішемічного інсульту з перебігом захворювання.

На основі порівняльного аналізу патоморфологічних змін у перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу отримано дані, що найбільш активні відновлювальні процеси спостерігалися при ішемічному інсульті, а найбільш інтенсивне поширення гіперфосфорильованого τ -білка при геморагічному інсульті. Показане одночасне протікання в часі процесів пошкодження, дегенерації та відновлення.

Практичне значення результатів дослідження. У дисертаційній роботі на основі результатів морфологічного дослідження дисертантка розробила перелік кількісних та напівкількісних критеріїв та оціночну шкалу для визначення типу та періоду інсульту.

Виходячи з результатів морфометричного та імуногістохімічного дослідження дисертантка запропонувала методику для визначення інтенсивності процесів дегенерації та відновлення в перифокальній зоні інсультів різного типу.

Авторкою імуногістохімічним методом встановлено зростання експресії τ -білку, кількості GFAP+-астроцититів та CD34+-клітин, які проявлялися в зростанні кількості гіперфосфорильованого τ -білку та збільшення площі репарації та ангиогенезу.

Оцінка дисертаційної роботи за змістом.

Дисертація написана за традиційною схемою та складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Робота викладена українською мовою, ілюстрована 40 таблицями та 48 рисунками. У списку використаних джерел наведено 263 посилань, серед яких переважають зарубіжні автори (62 посилання написані кирилицею, 201– латиною).

Розділ 1 (огляд літератури) Авторка у огляді літератури аналізує стан проблеми гострого порушення мозкового кровообігу. Посилаючись на найбільш вдалі та коректні джерела, підтверджує важливість проведеного дослідження, визначає проблемні питання та окреслює основні напрями їх подальшого вирішення. Даний розділ побудований з урахуванням епідеміології, патогенезу, факторів ризику, сучасних поглядів на морфогенез процесів пошкодження, запалення, репарації та дегенерації гострих порушень мозкового кровообігу.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» автором наводиться інформація щодо обсягу та методів дослідження. детально описано дизайн, об'єкт,

та методи дослідження перифокальних ділянок інсульту головного мозку. Наведені данні щодо обсягу проаналізованого ретроспективного матеріалу – 1092 випадки з ознаками інсульту, а також - проспективного матеріалу, що включав 71 секційний випадок померлих внаслідок різних типів інсультів. Описані загальногістологічні, морфометричні та імуногістохімічні методики, що були використані. Також були застосовані цифрові технології обробки зображень та їх аналізу.

Розділ 3. Присвячений викладенню результатів аналізу поширеності різних типів інсультів у період з 2010 по 2019 роки на основі вивчення архівного автопсійного матеріалу. Авторка показала у популяції, що досліджувалася, переважання частоти ішемічного інсульту над геморагічним інсультом та ішемічним інсультом з геморагічною трансформацією. Встановила зростання смертності за рахунок чоловічої статі – тау Кендала – 0,058 ($p=0,03$) та переважання смертності чоловіків над жінками.

Розділ 4 «Морфологічні зміни в перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу» побудований з трьох частин, які включають аналіз патоморфологічних змін у перифокальній зоні головного мозку при ішемічному інсульті, аналіз патоморфологічних змін у перифокальній зоні головного мозку при геморагічному інсульті, та аналіз патоморфологічних змін у перифокальній зоні головного мозку при ішемічному інсульті із геморагічною трансформацією.

Дисертантка встановила, що з перебігом ішемічного інсульту в перифокальній зоні головного мозку в гострому та віддаленому періодах зростала кількість випадків із поєднанням коагуляційного та колікваційного некрозу нейронів ($p_{1-2}<0,05$, $p_{1-3}<0,05$), зростання частоти виявлення нейронів із змінами, що тривало зберігалися, та сохрога аmylasea ($p_{1-3}<0,05$ при порівнянні 1-го та 3-го періодів для нейронів із відтермінованих змінами). Кількість активованих астроцитів та новостворених капілярів, що починали розвиватись у найгострішому періоді ішемічного інсульту, з перебігом захворювання зростали (з істотною різницею порівняно з 1-м періодом для ангиогенезу $p_{1-3}<0,05$). Запальна інфільтрація з перебігом інсульту змінювалось з нейтрофільного інфільтрату ($p_{2-3}<0,05$; $p_{1-3}<0,05$) на лімфомакрофагальний.

На основі отриманих результатів висунуто припущення, що пацієнти з ішемічним інсультом, у яких тривало зберігалися зміни головного мозку, краще переживали 1-й період захворювання.

Авторка показала, що при геморагічному інсульті в перифокальній зоні переважали нейрони з коагуляційним некрозом. Відмічена динаміка зростання частоти випадків із наявністю нейронів з довготривалими змінами з перебігом геморагічного інсульту ($p_{1-2}<0,05$; $p_{1-3}<0,05$). Також показано, що у 1-му періоді

інсульту переважав нейтрофільний інфільтрат, а у 2-му та 3-му з лімфомакрофагальний з істотною різницею між 1-м та 3-м періодами ($p_{1-3} < 0,05$). Продемонстровано, що гемістоцитарні астроцити в поєднання проліфіруючими капілярами та запальним інфільтратом відмежовували гематому від оточуючої тканини головного мозку.

Згідно отриманих результатів дослідження групи ішемічного інсульту з геморагічним інсультом дисертантка встановила, наявність як одного типу некрозу нейронів в одному випадку, так і поєднання коагуляційного та колікваційного некрозів у одному випадку. Також, у більшості випадків виявлено нейрони з персистуючими змінами, сохрога аmylasea та вогнища з лізисом нейронів та зростання частоти виявлення цього явища з періодом захворювання (статистично значуща між періодами $p_{1-2} < 0,05$ і $p_{1-3} < 0,05$). Відмічене зростання частоти реактивного астрогліозу та неоангіогенезу по мірі розвитку ішемічного інсульту з геморагічною трансформацією ($p_{1-2} < 0,05$ і $p_{1-3} < 0,05$ для астрогліозу та $p_{1-3} < 0,05$ для ангіогенезу).

Авторкою було продемонстровано, що в результаті ішемії/реперфузії в перифокальній тканині головного мозку окрім гострих та хронічних змін виявляли нейтрофіли із переважанням у 1-му періоді ($p_{1-3} < 0,05$) та лімфоцити і макрофаги впродовж усіх періодів ішемічного інсульту з геморагічною трансформацією. В окремих випадках окрім склерозу та гіалінозу стінок судин МЦР і пошкодження судин МЦР із трансмуральним фібриноїдним некрозом стінки.

Розділ 5 «Порівняння патоморфологічних змін у перифокальній тканині головного мозку при інсультах різного типу» містить результати порівняння гострих, тривалих та дегенеративних змін нейронів у перифокальній тканині головного мозку при інсультах різного типу, порівняння складу та інтенсивності запального інфільтрату у перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу, порівняння реактивного астрогліозу та ангіогенезу у перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу.

Дисертантка встановила, що при ішемічному інсульті зростало виявлення «тіней» нейронів у динаміці захворювання (91,67%; $p < 0,05$) та встановила зростання випадків із поєднанням «червоних» та «тіней» нейронів в одному випадку в перифокальній зоні при співставленні з іншими типами інсультів. Для усіх типів інсульту з часом продемонстровано зростання кількості нейронів із персистуючими змінами (коефіцієнт регресії β 0,4732; $p < 0,0001$). Також, у групі ішемічного інсульту з геморагічною трансформацією встановлено істотне переважання ділянок із втратою нейронів ($p = 0,003$) та сохрога аmylasea (85,72%; $p = 0,024$). Встановила істотне зростання частоти виявлення та поширення з

нейронів у нейропіль та астроцити τ -білку з тривалістю захворювання при всіх типах інсульту (тау Кендала 0,359; $p=0,023$). Цей процес найшвидше відбувався при геморагічному інсульті порівняно з ішемічним та ішемічним з геморагічною трансформацією.

Запальна клітинна інфільтрація при всіх типах інсульту характеризувалася зменшенням кількості нейтрофілів у динаміці захворювання ($p<0,05$) (метод рангової кореляції критерію тау Кендала -0,62, -0,31 і -0,51 для ІшІ та для ІшІ з ГТ) та зростанням ліфомакрофагального інфільтрату з перебігом захворювання при інсультах ішемічному та ішемічному з геморагічною трансформацією ($p<0,01$ для обох груп, критерій тау Кендала 0,40 і 0,464).

Авторка встановила, що для ішемічного інсульту були найбільш характерні процеси відновлення з наявністю реактивних астроцитів у 1-му періоді та найактивніший ангиогенез у 3-му періоді (із статистично значущою відмінністю $p=0,017$ із ГІ), що підтвердила прямою залежністю вираженості регенерації з періодом захворювання (тау Кендала 0,543 для ІшІ; 0,566 для ГІ і 0,598 для ІшІ з ГТ ($p<0,001$)) для всіх груп дослідження.

Дисертантка показала, що процеси відновлення з наявністю GFAP+ астроцитів та CD34+-попередників ендотеліальних клітин починались у 1-му періоді інсульту та в динаміці хвороби інтенсивність поширення даних маркерів зростала (тау Кендала 0,774; $p<0,001$ для GFAP+ астроцитів; CD34+-клітин тау Кендала 0,512; $p=0,001$) при всіх типах інсульту. Дисертантка продемонструвала найбільшу площу поширення GFAP+-астроцитів та CD34+-клітин $>61\%$ у групі ішемічного інсульту. Виявила, що CD34+-клітини в 1-му періоді при ГІ розташовувались по краю гематоми і в поєднанні з активованими астроцитами, мікроглією та запальними клітинами формували гліомезодермальну капсулу.

Дисертантка проаналізувала отримані результати, та встановила паралельне протікання в часі процесів пошкодження, запальної інфільтрації, репарації та дегенерації. Регенерацію, ангиогенез та дегенерацію засвідчено одночасним та взаємним підвищенням кількості GFAP+-астроцитів, CD34+-клітин (тау Кендала 0,740; $p<0,001$) та виявленням і поширенням τ -білка (тау Кендала 0,484; $p=0,002$).

Розділ 6 «Аналіз і узагальнення результатів дослідження». Підсумовано, що інтенсивність процесів репарації та ангиогенезу прямо корелювали між собою та зростали по мірі перебігу захворювання при всіх типах інсульту. Також, поряд з пошкодженням, запаленням та компенсаторно-відновлювальними процесами в перифокальній зоні інсульту головного мозку

відбуваються і дегенеративні зміни, що підтверджувалось прямою кореляцією між виявленням τ -білка та кількістю GFAP+-астроцитів.

Таблиці та рисунки наведені в дисертації віддзеркалюють основні результати та полегшують сприйняття викладеного матеріалу.

Висновки дисертації повністю відповідають меті та задачам дослідження, закономірно випливають з проведених досліджень та відображають основні результати виконаної дисертаційної роботи.

Практичні рекомендації цілком конкретні та можуть бути підґрунтям при розробці способів лікування інсультів.

Список використаних джерел літератури містить достатню кількість актуальних наукових публікацій за останні 5 років.

Повнота викладення наукових положень, висновків і рекомендацій в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць: 1 стаття у періодичному виданні, що входить до наукометричної бази Web of Science, 6 статей у журналах включених до переліку наукових фахових видань України категорії «Б» з наукового напрямку в фахових виданнях рекомендованих МОН України, 7 тез у збірниках матеріалів конгресів та науково-практичних конференцій, та один патент України на корисну модель.

Кількість друкованих робіт, необхідних для захисту дисертації достатня. Аналіз внеску авторки в публікаціях у співавторстві показав, що внесок Фаліон Р.І. в них вирішальний.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Дисертанткою розроблено та запропоновано оптимальний перелік кількісних і напівкількісних критеріїв, необхідних для визначення типу інсульту, які були широко впроваджені у практику охорони здоров'я та потребують подальшого впровадження.

Зауваження до дисертації.

1. У роботі зустрічаються невдалі стилістичні конструкції, граматичні помилки (наприклад, *Cogroga amilasea* – треба *Cogroga amyasea*).
2. CD34+-периваскулярні клітини (адвентиційні) є не тільки попередниками ендотеліоцитів, а й адипоцитів, гладких міоцитів, фібробластів, а також є продуцентами низки біологічно активних речовин, що впливають на тканини, що оточують судину.
3. В розділі «Матеріали і методи» наводяться дані, що були використані антитіла проти GFAP виробництва «Dako Cytomation», Данія, а на с. 128 Рис. 5.21 вказано що використане антитіло до GFAP виробництва «Thermo scientific».

4. У дисертацій постійно використовується вираз «хронічні зміни нейронів», а роз'яснення його змісту наводиться тільки на прикінці дисертації на с. 146. Слід зауважити, що термін «хронічний» традиційно використовується для характеристики хвороби або патологічного процесу, а не при описі змін клітин.
5. Вважаю, що використання терміну «загоєння» є не вдалим для визначення процесів, що відбуваються у мозку після інсульту.

Питання до автора дисертації в межах наукової дискусії:

1. Чи впливав проміжок часу від смерті до фіксації матеріалу формаліном на характер ІГХ-реакцій. Яка була тривалість фіксації формаліном зразків мозку, і як це впливало на характер ІГХ-реакцій.
2. Як Ви диференціювали посмертні зміни у мозку, та зміни обумовлені судинною катастрофою.

Не було виявлено порушень академічної доброчесності при розгляді дисертаційної роботи Фаліон Руслани Ігорівни на здобуття ступеня доктора філософії, про що свідчить довідка експертної комісії з перевірки рукопису дисертації та публікацій.

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Фаліон Руслани Ігорівни «Патоморфологічні зміни в перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу», що виконана під керівництвом завідувача кафедрою патологічної анатомії та судової медицини Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького д.мед.н, професора Поспішеля Ю.О., та подана на здобуття ступеня доктора філософії є завершеною самостійною працею. Авторка досягла поставленої мети дослідження, виконала усі завдання та дійшла відповідних висновків.

Дисертація Фаліон Руслани Ігорівни «Патоморфологічні зміни в перифокальній зоні головного мозку при інсультах різного типу» за актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, зі змінами згідно Постанови Кабінету Міністрів України від 21.03.2022 № 341, актуальними вимогами до оформлення дисертацій, затверджених наказом МОН від 12.01.2017 №40 (редакція від 12.07.2019).

Фаліон Руслани Ігорівни має необхідний рівень наукової кваліфікації та заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина.

Професор кафедри гістології та ембріології
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця
доктор медичних наук, професор

О.М. Грабовий

