

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію

МОСКАЛЕНКА РОМАНА АНДРІЙОВИЧА

“ ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ М'ЯКИХ

ТКАНИН ”, яка представлена у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03

при Харківському національному медичному університеті

на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія

Актуальність теми дисертації

Актуальність теми дисертації зумовлена необхідністю підвищення якості діагностики хвороб, пов'язаних із біомінералізацією шляхом уточнення особливостей механізмів розвитку патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму при різних захворюваннях.

Необхідно відмітити, що дисертаційна робота виконана у відповідності до плану наукових досліджень Медичного інституту Сумського державного університету МОН України і є частиною планових науково-дослідних робіт «Морфогенез загальнопатологічних процесів» (номер державної реєстрації 013U003315), «Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму за умов порушення гомеостазу» (номер державної реєстрації – 0115U000685) та «Дослідження змін у кістках при переломах за умов використання наноматеріалів для метал-остеосинтезу з урахуванням функції м'язового апарату» (номер державної реєстрації 0116U006815). Тема дисертації затверджена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 8 від 12.03.2012 р.) та уточнена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 9 від 09.03.2017 р.).

Дисертацію викладено українською мовою на 340 сторінках стандартного тексту (основна частина становить – 274 сторінки). Робота

складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень (включає шість підрозділів), аналізу й обговорення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій та списку літературних джерел, додатків, а також містить анотацію (українською та англійською мовами). Список цитованої літератури налічує 362 джерела, з яких 60 – кирилицею та 302 – латиницею. Результати власних досліджень містять 157 рисунків (світлини, схеми, діаграми) та 12 таблиць. Окрім того, рисунки та таблиці містяться також у розділах «Огляд літератури» та «Аналіз і обговорення отриманих результатів».

У вступі автор обґрунтовує актуальність обраної теми, зв'язок роботи із державними науковими програмами, ставить мету, завдання, визначає об'єкт і предмет дослідження, обирає основні методи дослідження. Сформульована наукова новизна отриманих результатів, їх значення для теорії і практики медицини, декларується особистий внесок здобувача, надається інформація про апробацію результатів дослідження і обсяг власних публікацій за темою дисертації.

В огляді літератури відображені сучасні уявлення про процеси біомінералізації в тканинах людського організму, патологію біомінералотворення в м'яких тканинах з точки зору молекулярного, метаболічного і клітинного оточення, окремо обговорюється роль кальпротектину S100A8/S100A9 у процесах патологічної біомінералізації. В огляді літератури вдало застосовуються рисунки та таблиці.

Завершує огляд літератури стислий підсумок та перелік публікацій автора дисертації оглядового характеру. Огляд літератури викладено на 34 сторінках тексту, що становить приблизно 12,4% від основного тексту дисертації.

У розділі «Матеріал і методи дослідження» автор дає характеристику матеріалу і надає відомості про методи дослідження. Наведені принципи епідеміологічних досліджень, традиційних та сучасних морфологічних досліджень, включно імуногістохімію та морфометрію, особливих досліджень біомінералів: рентген-дифракційне дослідження, рентгенівська та інфрачервона спектроскопія мінералізованого матеріалу для встановлення кристалічної фази та складу біомінералів, скануюча, просвічуюча електронна мікроскопія та атомна силова мікроскопія для вивчення структури й рельєфу мінералізованих утворень, окрім того, наводяться основні принципи використання статистичних методів дослідження в дисертаційній роботі. Застосовані методи дослідження – сучасні, відповідають меті та завданням наукового дослідження, дозволяють отримати здебільшого об'єктивні, непогано відтворювані результати.

Результати власних досліджень (155 сторінок) представлені шістьма підрозділами, в яких віддзеркалені:

1. Поширеність захворювань, пов'язаних з патологічною біомінералізацією в Сумській області з наведенням їхньої клініко-морфологічної характеристики.
2. Патоморфологічне дослідження аорти та аортальних клапанів за умов патологічної біомінералізації.
3. Патоморфологічне дослідження васкулярної біомінералізації при злоякісних пухлинах щитоподібної залози.
4. Морфологічні особливості біомінералізації за умов доброякісної гіперплазії передміхурової залози.
5. Особливості морфогенезу біомінералізації при такій патології жовчного міхура як хронічний холецистит, рак жовчного міхура, порцеляновий жовчний міхур.
6. Патоморфологічне дослідження окремих рідкісних спостережень біомінералізації різних локалізацій.

Результати власних досліджень містять 157 рисунків (світлини, схеми, діаграми) та 12 таблиць (зауваження до таблиць та рисунків винесені окремо). Зображення належної якості та інформативні.

Розділ власних досліджень завершується списком власних публікацій.

Аналіз та узагальнення результатів досліджень викладено на 54 сторінках тексту, в якому проводиться всебічний аналіз отриманих результатів. Позитивним моментом у цьому розділі є застосування рисунків у вигляді схем, які значно покращують сприйняття складного матеріалу. У даному розділі також надаються рисунки із мікрофотографіями, які ілюструють результати імунофлюоресцентного дослідження. Ці мікрофотографії краще було би розмістити в підрозділах, де описуються результати власних досліджень, або у додатках.

Висновки, у кількості десять – логічні, послідовні, відповідають у цілому поставленій меті, завданням і основному змісту дисертаційної роботи.

Дисертація написана державною літературною мовою, стиль викладання зауважень не викликає за виключенням окремих помилок друку.

Ступінь обґрунтування та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Метою дисертаційного дослідження було підвищення якості діагностики хвороб, пов'язаних із біомінералізацією, шляхом виявлення особливостей морфогенезу патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму на фоні атеросклерозу, проліферативних процесів, запалення за умов різної органної локалізації. Встановлені завдання відображають у повному обсязі предмет дослідження для досягнення обраної мети.

Дисертаційна робота виконана в Сумському державному університеті на кафедрі патологічної анатомії. Дослідження проведені на матеріалі,

отриманому від 270 пацієнтів, які проходили лікування у клініці Сумської обласної клінічної лікарні (СОКЛ) та Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру (СОКОД) з 2010 до 2016 р. Основу клініко-морфологічних, імуногістохімічних та фізико-хімічних досліджень дисертаційної роботи становили 70 зразків аорти, 40 зразків аортальних клапанів, 74 випадки патології щитоподібної залози, 20 випадків патології простати, 20 випадків патології жовчного міхура, п'ять випадків панкреолітазу, 10 випадків сіалолітазу та один випадок патологічної біомінералізації ока. Вивчали дані з історій хвороб, результати ультразвукового дослідження, патогістологічні висновки та протоколи розтинів при автопсійних дослідженнях. Для епідеміологічних досліджень використані дані обласного управління статистики, обласного канцер-реєстру, відділення статистики СОКЛ та журнали реєстрації результатів біопсій патологоанатомічного відділення СОКОД і філії Сумського обласного патологоанатомічного бюро (СОПАБ). Проведення дослідження було схвалене етичним комітетом Медичного інституту Сумського державного університету МОН України (протокол №3/6, 07.06.16). Усі дослідження виконані згідно з Гельсінською декларацією (6-те видання, перегляд 2008 р., Сеул) та Універсальною декларацією біоетики та прав людини (2006 р.).

Відбір зразків для досліджень. *Зразки аорти та аортальних клапанів.* Дослідження проводили на секційному матеріалі, отриманому під час автопсій на базі СОПАБ. Для дослідження відібрані серцеві клапани з ознаками атеросклеротичного ураження та біомінералізації. Всього вивчено 30 кальцифікованих аортальних клапанів та 10 клапанів з явищами атеросклеротичних змін, але без проявів патологічної біомінералізації (контрольна група). Грунтуючись на записах історій хвороб, до досліджуваних груп не включали пацієнтів із ендокардитами, ревматичними вадами серця та двостулковими аортальними клапанами. У роботі вивчали препарати аорт з ознаками атеросклеротичного ураження. Контрольну групу

становили 10 зразків аортальної тканини без ознак біомінералізації. До основної групи віднесено 60 зразків аорт на стадії атерокальцинозу різного ступеня вираженості. *Зразки мінералізованих тканин злоякісних пухлин щитоподібної залози.* Всі випадки були обстежені клінічно та морфологічно для виявлення патологічної біомінералізації. На дослідження взято 54 випадки папілярного раку щитоподібної залози та 20 випадків фолікулярного раку щитоподібної залози. Першу серію досліджень становили 24 випадки папілярного раку щитоподібної залози із проявами патологічної біомінералізації (псамомні тільця). Другу серію складали випадки папілярного раку щитоподібної залози без проявів біомінералізації. До третьої серії входили 20 випадків фолікулярного раку щитоподібної залози із кальцифікатами. *Зразки жовчного міхура.* Для дослідження були відібрані хворі, які лікувалися в хірургічному відділенні Сумської обласної клінічної лікарні впродовж 2012–2016 рр. Пацієнти були госпіталізовані в плановому порядку з діагнозом хронічний калькульозний холецистит. Хворим під ендотрахеальним наркозом виконане оперативне втручання: лапароскопічна холецистектомія, дренажування черевної порожнини. Патологічну біомінералізацію при жовчо-кам'яній хворобі вивчали на внутрішньоміхурових конкрементах. Усього було обстежено 10 пацієнтів (усі жінки). *Зразки передміхурової залози з простатолітіазом.* Для дослідження були відібрані 20 випадків простатолітіазу. До складу контрольної групи входили 20 випадків без простатолітіазу. *Зразки мінералізованих тканин інших локалізацій.* У роботі були використані 10 зразків сіалолітів, 10 випадків біомінералізації раку молочної залози, 5 зразків панкреолітів, 1 зразок кальцифікації ока.

Весь матеріал піддавався обробці із застосуванням морфологічних методів дослідження; гістологічне дослідження, для чого зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, алізариновим червоним S за методом фон Косса, та проводили PAS-реакцію, імуногістохімічним методом визначали антигени: S100A9, S100A8, OPN, CD68, Caspase 3, MPO, Collagen I. Для перевірки

якості проведеного імуногістохімічного дослідження застосовували активний та пасивний контроль одержаних результатів.

Вимірювання розмірів складових елементів мікропрепаратів проводили за допомогою морфометричної програми «SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394» (Україна) та програми «Pannoramic Viewer 1.15.4». Отримання та зберігання знімків препаратів проводили за допомогою цифрової системи виведення зображення «SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394» (Україна), «ZEN» для мікроскопів «Carl Zeiss» та «Pannoramic Scan 250» (3DHISTECH, Угорщина).

Вивчення біомінералів за допомогою методів прикладного матеріалознавства проведено в лабораторії Інституту прикладної фізики НАН України (завідувач – канд. фіз.-техн. наук С.М. Данильченко). Дослідження методом скануючої електронної мікроскопії виконані на приладі РЕММА-102 (SEIMI, Україна). Обробку спектрометричної інформації проводили за допомогою штатного програмного забезпечення системи мікроаналізу. Рентген-дифракційне дослідження структури матеріалів виконане на дифрактометрі ДРОН4-07. Попереднє оброблення експериментальних результатів було проведене у програмному пакеті DIFWIN-1 (ТОВ «Еталон ВТЦ»), ідентифікація кристалічної структури і фазового складу – за допомогою програмного пакета Crystallographica Search-Match (Oxford Cryosystems). Інфрачервона спектроскопія була виконана на Фур'є-спектрометрі Spectrum-One (Perkin Elmer, USA, 2003). Атомна силова мікроскопія (АСМ) виконана за допомогою системи Bruker Bioscope Catalyst, поєднаної з інвертним мікроскопом Nikon Eclipse Ti-S.

Використані методи статистичного дослідження: аналіз динамічних рядів, аналіз середніх величин та показників варіації, прогнозування. Результати морфометричних вимірювань тканин та імуногістохімічного дослідження перевірені на нормальний розподіл (НР) за допомогою критерію Shapiro–Wilk. У разі ненормального розподілу цифрових показників для оцінювання статистичної значущості використовували критерій Манна–Уїтні (Mann–Whitney) та Вілкоксона (Wilcoxon).

Отже, наукові положення, висновки і рекомендації обґрунтовані статистично достовірними результатами, проаналізовані і підтверджені якісними і кількісними морфологічними характеристиками.

Новизна дослідження й отриманих результатів.

Вперше в мінералізованих м'яких тканинах організму визначені патоморфологічні зміни та особливості морфогенезу патологічної біомінералізації та літогенезу. Вперше встановлені загальні закономірності патологічної біомінералізації, встановлені переважаючі кристалічні фази, будова та хімічний склад мінеральних депозитів. Вперше з'ясовані передумови ініціації та прогресування процесів патологічної біомінералізації на фоні різних патологічних процесів. Уточнені та доповнені дані про спрямованість компенсаторно-приспосувальних і реадaptивних реакцій організму за умов біомінералізації м'яких тканин. Здійснене оцінювання клінічного значення та прогностичного потенціалу патологічної мінералізації. Вперше на клінічному матеріалі проведене комплексне дослідження морфологічних особливостей тканин із патологічною біомінералізацією. Вперше встановлений детальний фазовий та фізико-хімічний склад основних форм патологічних біомінералів у досліджуваних органах. Доповнено наукові дані щодо діагностичного та прогностичного значень біомінералізації м'яких тканин. Завдяки використанню сучасних морфологічних методів дослідження (гістологічні, імуногістохімічні, гістохімічні, морфометрія, скануюча електронна мікроскопія, рентгенівська дифракція) показано, що біомінеральні депозити і реактивні зміни мікрооточення патологічного процесу є важливими прогностичними ознаками у канцерогенезі. Виявлене значення експресії S100A9, S100A8, OPN у морфогенезі біомінералізованої тканини різної локалізації та показане значення цих маркерів в оцінюванні перебігу процесу кальцифікації.

Повнота викладання матеріалів дисертації в опублікованих роботах і авторефераті.

Матеріали дисертаційної роботи опубліковані в 41 науковій праці, зокрема, у 22 статтях, з яких 16 праць представлені в наукових фахових виданнях України (12 – у журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз), одна стаття – у вітчизняному виданні, яке індексується в наукометричній базі SCOPUS, п'ять статей – у закордонних наукових виданнях, чотири з них індексуються в наукометричній базі SCOPUS, 17 тез опубліковано в матеріалах науково-практичних конференцій, отримано два патенти на корисну модель. Три наукові праці опубліковано одноосібно.

Автореферат за своєю структурою відповідає встановленим вимогам щодо докторських дисертацій, його зміст у повному обсязі відображає основні наукові положення, викладені у дисертації. Висновки і рекомендації ідентичні таким у тексті дисертації.

Теоретичне й практичне значення результатів дослідження.

Отримані результати дають можливість удосконалити патоморфологічну діагностику патології різних органів, яка розвивається за умов патологічної біомінералізації, а в перспективі дадуть можливість проводити профілактичні заходи попередження кальцифікатів, пригнічувати їх розвиток, сприяти регресу сформованих біомінералів.

На підставі результатів роботи розроблені корисні моделі «Спосіб дослідження оптичних властивостей гістологічних зрізів», «Спосіб підготовки біологічних зразків для скануючої електронної мікроскопії». Створено банк зразків біомінералів різних органів і тканин людського організму (більше ніж 300 зразків). На підставі Наказу МОЗ України та НАМН від 13.11.2013 р. №969/97 «Про удосконалення впровадлень досліджень медичної науки у сферу охорони здоров'я» розроблений інформаційний лист № 154 «Діагностичне і прогностичне значення

біомінералізації при папілярному раку щитоподібної залози» для запровадження в практичну медицину.

Одержані результати дослідження дозволять більш диференційовано підходити до діагностики пухлин щитоподібної залози. Запропоновані діагностичні ознаки можуть бути використані в діагностичних алгоритмах канцерогенезу, що дозволить оптимізувати прогнозування клінічного перебігу пухлинного процесу та індивідуалізувати лікування патології за наявності біомінералізації.

Результати наукового дослідження запроваджені в практичну діяльність Сумського і Тернопільського патологоанатомічних бюро, в навчальний процес на кафедрах патологічної анатомії низки закладів вищої освіти України (Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського, Запорізький державний медичний університет, Буковинський державний медичний університет, Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, Харківський державний медичний університет, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), Медичний інститут СумДУ.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту й оформлення.

Оцінюючи дисертаційну роботу Р.А.Москаленка в цілому позитивно, необхідно звернути увагу дисертанта на наступні недоліки.

1. Враховуючи те, що перелік власних публікацій дисертанта 1) дається в анотації, 2) наводиться в кінці кожного розділу, 3) окремо виноситься у Додатку в кінці дисертації, то внесення цих же публікацій у список літератури є зайвим.
2. Напевно, слід визнати невдалим застосування двох різних хромогенів для імуногістохімічних реакцій (діамінобензидину та аміно-етил-корбазолу) замість одного з них. Це не дозволило отримати найвищий рівень відтворюваності кількісної оцінки ступеня забарвлення хромогеном (наприклад, за допомогою цитофотометрії або комп'ютерної

мікроденситометрії). Автор таким чином був змушений застосувати бальну оцінку ступеня забарвлення, причому була обрана система, яка підходить тільки для випадків, коли всі клітини у препаратах мають приблизно однаковий ступінь забарвлення, що на практиці зустрічається далеко не завжди. Отже, відтворюваність кількісних результатів ступеня забарвлення при постановці імуногістохімічного методу знаходиться не на максимальному рівні, як це можливо на основі сучасних методів оцінки ступеня забарвлення.

3. Застосування параметричних методів статистики (методу Стьюдента) для показників, які виражені у балах, (зокрема у таблиці 3.9 – сторінка 155) не є найкращим методом, бо бали первинно є непараметричною оцінкою, тому повинні застосовуватися непараметричні методи, а правило нормальності розподілу в статистичних вибірках тут застосовано невірно. Щоправда, це стосується тільки досліджень з імуногістохімічного визначення антигену CD68.
4. У назвах окремих таблиць не наводиться інформація, який власне показник піддається статистичній обробці даних, зокрема, таблиці 3.8 – сторінка 129, 3.9 – сторінка 155, 3.10 - сторінка 183, однак, це можна встановити за змістом текстової інформації, яка передує кожній таблиці.
5. Підписи до деяких рисунків не відповідають інформації, яка зображена на них у частині локалізації підписів щодо масштабу зображення, зокрема, у підписах о рисунків 3.120-3.124 зазначено, що «Збільшення вказано у лівому нижньому куті мікрофотографій.», а насправді воно вказано у правому нижньому куті мікрофотографій.
6. Навряд чи є правильним розміщення мікрофотографій люмінесцентних зображень у розділі «аналіз та обговорення отриманих результатів». таку інформацію зазвичай розміщують у результатах власних досліджень або додатках, бо вона відноситься до результатів досліджень, а не до аналізу чи обговорення.

У цілому вказані недоліки дисертаційної роботи не принципові та не впливають на вагомість наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих в дисертації.

У процесі аналізу змісту дисертації Р.А.Москаленка виникли такі питання до дисертанта:

1. Як Ви бачите роль апоптозу в процесах патологічної біомінералізації м'яких тканин при вивчених Вами варіантах патології?

Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці.

Результати можуть бути використані у навчально-методичному процесі вищих медичних навчальних закладів на кафедрах патологічної анатомії, кафедрах онкологічного спрямування а також у практичній роботі лікарів-патологоанатомів. Одержані результати можуть бути базисними для розробки нових методів профілактики та лікування патології, яка супроводжується процесами патологічної біомінералізації.

В И С Н О В О К

про відповідність дисертації поставленим вимогам

Дисертація Москаленка Романа Андрійовича “Патоморфологічні особливості біомінералізації м'яких тканин” є завершеною кваліфікаційною науковою працею, яка містить результати проведених автором досліджень та отримані нові науково обґрунтовані результати, які в сукупності дають теоретичне обґрунтування та нове вирішення наукової проблеми покращення якості діагностики хвороб, пов'язаних із біомінералізацією шляхом виявлення особливостей морфогенезу патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму різної органної локалізації.

Результати та висновки дисертаційного дослідження здобувача Р.А.Москаленка є підставою для застосування нових підходів діагностики патології, яка супроводжується процесами патологічної біомінералізації.

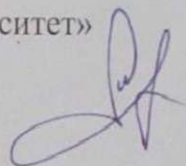
За актуальністю теми, обсягом проведених досліджень, науковою новизною отриманих результатів, практичним значенням та обсягом публікацій дисертація є завершеним науковим дослідженням, представляє науковий та практичний інтерес та повністю відповідає вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 р., а її автор, Москаленко Роман Андрійович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Завідувач кафедри патологічної анатомії

Вищого державного навчального закладу України

«Буковинський державний медичний університет»

доктор медичних наук, професор



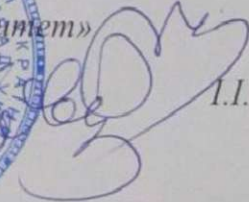
І.С.Давиденко

21 січня 2018 року

Підпис доктора медичних наук, професора І.С.Давиденка засвідчую:

Вчений секретар Вищого державного навчального закладу України

«Буковинський державний медичний університет»



І.І.Павлуник