

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора Гаргіна Віталія Віталійовича, професора кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету на дисертаційну роботу Москаленка Романа Андрійовича «Патоморфологічні особливості біомінералізації м'яких тканин» поданої до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія

I. Актуальність вибраної теми дисертації

Патогенез ектопічної кальцифікації (невідповідна біомінералізація, що виникає в м'яких тканинах) залишається актуальною проблемою сучасної медицини з огляду на поширеність процесів та органів, де вона може спостерігатися. Вона є найбільш поширеною в порівнянні з відкладанням інших мінералів або їх солей. Ектопічні кальцифікати, як правило, складаються з солей фосфату кальцію, включаючи гідроксиапатит, але можуть також складатися з оксалатів кальцію та фосфату октакальцію. За відсутності системного мінерального дисбалансу, ектопічну кальцифікацію зазвичай називають дистрофічною кальцифікацією. Часто такі ділянки свідчать про наявність змін тканин у вигляді дистрофії, некрозу, запалення, пухлинного процесу; дистрофічна мінералізація може спостерігатися в м'яких тканинах внаслідок травми, хвороби, старіння. Однією з найчастіших проблем, пов'язаних із патологічною біомінералізацією, є пошкодження клапанів серця; саме необхідність удосконалення тканинних біопротезувальних клапанів обумовила активні дослідження в цій галузі та забезпечила значну частину поточної інформації про механізми ектопічної кальцифікації. Незважаючи на значні досягнення, відсутність знань про основні механізми контролю над аномальною

біомінералізацією ускладнює розробку клінічно ефективних антикаліцидних заходів. Таким чином, тема наукової роботи Р.А. Москаленка є надзвичайно актуальною не лише з позиції патологічної анатомії, але й медицини в цілому, оскільки регенераційні та репараційні можливості тканин організму за умов розвитку процесів патологічної біомінералізації залишаються неясними; важливим питанням є не тільки пошук шляхів профілактики і лікування патологічної біомінералізації, але й їх необхідність, враховуючи, що патологічна біомінералізація досить часто має захисний характер.

Враховуючи вище наведене, автором даної дисертаційної роботи обрано важливий напрямок дослідження у медичній галузі, що спрямовано на покращення розуміння природи та підвищення якості діагностики хвороб, пов'язаних із біомінералізацією шляхом виявлення особливостей морфогенезу патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму на фоні атеросклерозу, проліферативних процесів та хронічного запалення за умов різної органної локалізації. Для отримання значущих результатів автором були поставлені 8 адекватних задач та визначено напрямки в методичних підходах.

II. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота Р.А. Москаленка виконана в рамках наукових досліджень Медичного інституту Сумського державного університету МОН України (СумДУ) і є частиною планової наукової теми кафедри патологічної анатомії № 013U003315 «Морфогенез загальнопатологічних процесів» та держбюджетної теми «Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму за умов порушення гомеостазу» (номер державної реєстрації – №0115U000685). Також дослідження виконувалося в рамках науково-дослідної теми «Дослідження змін у кістках при переломах за умов використання наноматеріалів для метал-остеосинтезу з урахуванням функції м'язового апарату» (номер державної реєстрації 0116U006815).

III. Наукова новизна результатів дослідження

За ходом проведеного на клінічному матеріалі комплексного дослідження морфологічних особливостей тканин із патологічною біомінералізацією отримано результати, які можна оцінювати як пріоритетні. Так, визначено детальний фазовий та фізико-хімічний склад основних форм патологічних біомінералів у досліджуваних органах.

Використання комплексу методів дослідження (серед яких ті, що традиційно відносять до фізико-хімічних) дозволило показати загальні закономірності патологічної біомінералізації, встановити фази формування, будову та хімічний склад мінеральних депозитів.

Встановлено, що біомінеральні депозити і реактивні зміни мікрооточення патологічного процесу є важливими прогностичними ознаками у канцерогенезі, а основним типом патологічної біомінералізації щитоподібної залози є судинозалежна кальцифікація, яка частіше спостерігається при злоякісних пухлинах щитоподібної залози. Усі випадки судинної кальцифікації щитоподібної залози при злоякісних пухлинах відповідають кальцій-фосфатному типу біомінералізації. Основною фазою біомінеральних депозитів злоякісних пухлин щитоподібної залози є структуровані гідроксиапатити з домішками β -ТКМФ.

У процесі виконання роботи автором за допомогою проведеного імуногістохімічного дослідження показано взаємозв'язок патологічної біомінералізації з запальними процесами, процесами апоптозу.

IV. Теоретичне значення результатів дослідження

Одержані автором дані доповнюють і розширюють існуючі уявлення про розвиток та формування патологічної біомінералізації м'яких тканин, показано, що ектопічна кальцифікація є загальною проблемою, пов'язаною з ураженням органів, захворюванням та дегенеративними змінами, що виявляються в тканині. У всіх випадках рецепторний набір клітин (перш за все OPN, S100A8 та

S100A9) відіграє активну роль у регулюванні осадження мінералів. Клітини можуть регулювати нуклеацію, синтезуючи мінералізацію некомпетентної матриці, активно вивільняючи матричні везикули, або шляхом вимирання та забезпечення продуктів клітинної дегенерації, тим самим стимулюючи зародження кристалів. І навпаки, клітини, можуть синтезувати природні інгібітори мінералізації, які зазвичай можуть служити для запобігання ектопічної мінералізації. Безсумнівно, баланс між цими про- та антикальцифікаційними механізмами диктує формування ектопічної кальцифікації на ділянці пошкодження. Отримання кращого розуміння цих механізмів повинно призвести до покращення профілактики та лікування ектопічної кальцифікації в майбутньому.

Проведені автором дослідження дозволили отримати результати, що дозволяють визначити особливості морфологічних змін і виявити динаміку та спрямованість патологічних процесів у різних типах тканин.

V. Практичне значення результатів дослідження

Результати, отримані Р.А. Москаленком, можуть бути використані як морфологічна основа та обґрунтування для формування груп лікарського нагляду з метою коригування патологічних змін, які супроводжуються розвитком патологічної біомінералізації.

Зокрема, результати роботи можуть бути використані при прогнозуванні перебігу неопластичних процесів, при яких основним типом патологічної біомінералізації є судиннозалежна кальцифікація.

При дослідженні тканини щитоподібної залози слід враховувати, що стромальна кальцифікація, характерна для всіх захворювань цього органу (ураження капсули, міжчасточкової і міжфолікулярної сполучної тканини), паренхіматозна кальцифікація властива для доброякісних процесів щитоподібної залози (кальцифікація колоїду та фолікулярного епітелію).

Результати дослідження можна використовувати як діагностичний критерій при наявності патологічної біомінералізації у м'яких тканинах, для навчання студентів медичних університетів, на курсах патологічної анатомії, також у практичній роботі патологоанатомів, променевих діагностів, онкологів.

Основні положення роботи вже впроваджені в лікувальний та навчальний процес і наукові розробки ряду морфологічних кафедр та патологоанатомічних відділень та бюро України.

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

Проведений комплекс клініко-морфологічних досліджень, що включає гістологічний та гістохімічний методи (забарвлення кальцифікованих тканин за Коссом, алізариновим червоним, застосування PAS-реакції), імуногістохімічний метод (застосування МКА до OPN, S100A8, S100A9, Casp3, CD68, MPO, CollagenI), морфометричний метод, 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 утворів, надав вагомий обсяг цифрового матеріалу, який повноцінно статистично оброблено, що дозволяє стверджувати, що отримані результати викликають довіру, репрезентативні, обґрунтовані.

Усі наукові положення та рекомендації чітко сформульовані, підтверджені отриманими результатами. Висновки логічно пов'язані та добре аргументовані, повністю відповідають меті і поставленим завданням.

VII. Обсяг і структура дисертації

Дисертація Р.А. Москаленка оформлена за традиційною схемою, написана українською мовою і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень і узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку

використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 187 мікрофотографіями та 17 графіками, таблицями і схемами, які розміщені за текстом.

Вступ роботи містить інформацію про актуальність роботи. Лаконічно викладені мета та завдання роботи, обґрунтовані наукова новизна та практичне значення одержаних результатів, зазначений перелік наукових конференцій, на яких апробовані результати досліджень.

Розділ «Огляд літератури» складається із трьох підрозділів, у яких представлені дані про стан уявлень щодо патологічної біомінералізації, наведено історичний ракурс формування біомінералів, представлені дані відносно біомінералізації у тканинах людського організму, надані відомості про патологію біомінералоутворення у м'яких тканинах з точки зору молекулярного, метаболічного та клітинного оточення, описано роль кальпротектину S100A8/S100A9 у процесах патологічної біомінералізації.

Автор описує досягнення та недоліки у дослідженнях біомінералів, вказує, що такі дослідження ускладнюються взаємодією органічного і мінерального компонентів, з яких вони складаються, підводить, що органічна і мінеральна складові біомінералів нерозривно пов'язані між собою і взаємодіють за певними законами, пояснює походження ряду термінів, зокрема «органомінеральні агрегати».

Підсумовуючи огляд літератури автор вказує на вагому участь кальгранулінів у процесах патологічної біомінералізації, наголошує, що S100A8 та S100A9 як поодинці, так і у складі кальпротектинового комплексу, є надзвичайно цікавими об'єктами для вивчення їх можливої ролі у процесах патологічної біомінералізації, оскільки окрім цито- та хемокінової активності, ці молекули володіють важливою конститутивною особливістю: зв'язування іонів кальцію та деяких інших двох-валентних іонів. Як наслідок, враховуючи численні властивості комплексу кальпротектину та його компонентів, автор робить висновок про його перспективність з точки зору прикладення нових

лікарських засобів та пошуку нових біомаркерів хвороб на чому він і будує свої подальше дослідження. У подальшому саме взаємодія S100A8 та S100A9 є ключовою у всіх власних дослідженнях.

Другий розділ «Матеріали та методи досліджень» послідовно та досконало описує всі методи дослідження, які застосовуються для вирішення поставлених завдань, які вже згадувалися вище.

Результати власних досліджень, представлені у шести підрозділах, розпочинаються із дослідження поширеності захворювань, пов'язаних з патологічною біомінералізацією в Сумській області, та їх клініко-морфологічної характеристики. Потім послідовно, і головне за однаковою методологічною схемою, наводяться дані про морфологічне дослідження аорти та аортальних клапанів за умов патологічної біомінералізації, васкулярної біомінералізації при злоякісних пухлинах щитоподібної залози, біомінералізації за умов доброякісної гіперплазії передміхурової залози, біомінералізації при патології жовчного міхура: хронічному холециститі, раку жовчного міхура, порцеляновому жовчному міхурі, окремих випадків біомінералізації різної локалізації (у кожному випадку надані дані й для аналогічних патологічних станів без наявності патологічної біомінералізації). Кожен підрозділ розпочинається з клінічних відомостей щодо досліджуваних випадків, результатів макроскопічного дослідження, йде описання гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних препаратів з даними морфометрії. Додаткове підтвердження та уточнення хімічного та фазового складу відкладених мінералів надано за допомогою методу скануючої електронної мікроскопії з рентгенівським мікроаналізом. Наведені результати рентгендифракційного дослідження, інфрачервоної спектроскопії, атомної силової мікроскопії, імуно-дот та вестерн-блот аналізу.

Усі підрозділи написані ґрунтовно, детально, слід зазначити добру ілюстрацію процесів, що описуються мікрофотографіями, причому майже усі рисунки за текстом представлені двома, або навіть більше, фотографіями.

Розділ "Аналіз і узагальнення результатів власних досліджень" написано з високим професіоналізмом, переконує в широкій обізнаності автора в досліджуваній проблемі та вмінні аналізувати отримані дані. Можливо не зовсім доречним є наведення ілюстративного матеріалу, представленого у цьому розділі, проте це, безумовно, полегшує засвоєння інформації, яку намагається довести автор. Як наслідок отримання результатів вищезазначених досліджень автор, узагальнюючи їх, логічно створює схеми формування відкладень мінералів, вказує на перспективу подальших досліджень.

Десять висновків роботи Р.А. Москаленка адекватні отриманим результатам і відображають зміст дисертації, обґрунтовані, відповідають меті і завданням.

Список використаних джерел складається з 362 робіт, має посилання на власні публікації.

VIII. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

Основні наукові результати дисертаційної роботи повністю висвітлені у 41 науковій праці, зокрема, у 22 статтях, з яких 16 праць представлені в наукових фахових виданнях України, 1 стаття – у вітчизняному виданні, яке індексується в наукометричній базі SCOPUS, 5 статей – у закордонних наукових виданнях (Грузія, Німеччина, Чехія, Польща, Австрія), 4 з них індексуються в наукометричній базі SCOPUS. Матеріали досліджень неодноразово доповідалися на міжнародних і всеукраїнських конференціях.

Наведене вище цілком доводить достатньо повну і високу достовірність результатів дослідження. Автореферат та опубліковані у фахових виданнях статті і тези, які друкувалися у матеріалах конференцій, повністю віддзеркалюють основні положення та висновки дисертаційної роботи.

ІХ. Недоліки дисертації щодо змісту й оформлення

При роботі з дисертацією та авторефератом Р.А. Москаленка виникли деякі зауваження та побажання щодо змісту, а також запитання, на які хотілося б одержати відповідь автора.

- 1) За текстом дисертації та автореферату встановлена невелика кількість технічних помилок, зустрічаються орфографічні та стилістичні помилки, які не впливають на якість роботи. Наприклад, досить часто за ходом роботи зустрічається вислів «біомінералізація різних локалізацій» замість «біомінералізація різної локалізації».
- 2) На нашу думку наведення мікрофотографій у розділі "Аналіз і узагальнення результатів власних досліджень" є не зовсім доречним навіть з огляду на значно легше сприйняття матеріалу.
- 3) Підрозділ, у якому представлена наукова новизна, у більшій мірі має декларативний характер без уточнення конкретної наукової новизни, що викликає особливий жаль, оскільки пріоритетних досягнень отриманих за ходом роботи відносно ланок морфогенезу та патогенезу патологічної біомінералізації вистачає.

В процесі рецензування виникли наступні питання:

- 1) У своїй роботі Ви більшим чином описуєте процеси, які відповідають саме ектопічній кальцифікації. На Вашу думку, які чинники є найбільш вагомими за наявності патологічної біомінералізації, пов'язаної з іншими мінералами та чи є їх зіставлення з тими, що Ви описуєте? Який з механізмів (матриксне депонування чи пряме осадження біомінеральних сполук з перенасиченого розчину) є більш важливим при цьому?
- 2) Як відрізнити сприятливі та несприятливі наслідки ектопічної кальцифікації та яким чином враховувати при веденні окремих пацієнтів?

3) Чи має наслідки переважання активності остеопонтину або кальпротектинів для перебігу патологічного процесу?

Вказані зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку роботи і не зменшують її теоретичного значення та наукової цінності, а аналіз дисертаційної роботи Р.А. Москаленка дає підставу вважати, що завдання дослідження вирішені, а мета наукової роботи досягнута.

X. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці

Використання результатів дисертаційного дослідження може бути використано як діагностичний та прогностичний критерій при наявності патологічної біомінералізації у м'яких тканинах, для навчання студентів медичних університетів, на курсах патологічної анатомії, у практичній роботі патологоанатомів, променевих діагностів, онкологів.

XI. Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційну роботу Москаленка Романа Андрійовича «Патоморфологічні особливості біомінералізації м'яких тканин», яка виконана в Сумському медичному інституті (науковий консультант доктор медичних наук, професор Романюк Анатолій Миколайович), слід кваліфікувати як закінчену науково-дослідну роботу, яка містить теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми, що стосується покращання якості діагностики хвороб, пов'язаних із біомінералізацією, шляхом виявлення особливостей морфогенезу патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму на фоні атеросклерозу, проліферативних процесів та хронічного запалення за умов різної органної локалізації. Дисертаційна робота Москаленка Романа Андрійовича за актуальністю, новизною отриманих результатів, їх практичним значенням, об'ємом досліджень та рівнем методичного вирішення поставлених задач відповідає п. 10 Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013

р. № 567 “Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів” (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015 р. та №1159 від 30.12.2015 р.) щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Доктор медичних наук,
професор, професор кафедри
патологічної анатомії
Харківського національного
медичного університету МОЗ України
Гаргін Віталій Віталійович

