

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова Вернігородського Сергія Вікторовича на дисертаційну роботу Москаленко Романа Андрійовича "Патоморфологічні особливості біомінералізації м'яких тканин", подану до захисту в 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 обраної теми.

Останнє сторіччя характеризується різким підвищенням промислового та сільськогосподарського виробництва, розвитком транспорту, енергетики, хімізації, зростанням урбанізації, що, у свою чергу, викликає ще більше забруднення навколишнього середовища та призводить до погіршення здоров'я населення. Одним з показників, що свідчать про вплив екзо- та ендогенних чинників на організм людини та відповідної реакції на них виступають мінерали патогенного характеру. У зв'язку із зростанням захворюваності на ішемічну хворобу серця, в основі якої лежить атеросклероз коронарних артерій, раку щитоподібної, передміхурової та молочної залоз, сечокам'яної та жовчнокам'яної хвороб, суттєво підвищився інтерес до біоменералізації, як процесу, тісно пов'язаному із взаємодією органічних та мінеральних речовин, результатом якого є утворення органо-мінеральних агрегатів біогенної природи. Не дивлячись на велику кількість робіт, присвячених переважно вивченню структурних елементів неорганічної частини даних агрегатів, органічні компоненти та механізми їх взаємодії з неорганічними речовинами залишаються не вивченими. Так, не з'ясованим до кінця залишається кальпротектин-залежне ушкодження ендотелію при атеросклерозі, виникнення мікро- та макрокальцифікатів щитоподібної залози та їх зв'язок з прогресуванням злоякісних пухлин, закономірності утворення жовчних і інших конкрементів в організмі людини, що безумовно є актуальними питаннями сьогодення, особливо з позиції подальшої морфологічної діагностики, профілактики та лікування

патологічної біомінералізації. Саме вирішенню даної наукової проблеми і присвячена дисертаційна робота Москаленко Р.А.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Москаленко Р.А. є частиною планової наукової теми кафедри патологічної анатомії медичного інституту Сумського державного університету №013U003315 «Морфогенез загальнопатологічних процесів» та держбюджетної теми «Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму за умов порушення гомеостазу», державна реєстрація – № 62.20.02-01.15/17.3Ф. 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).

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій. Дисертаційне дослідження виконане на достатньому за обсягом матеріалі, отриманому від 270 пацієнтів, у яких були виявлені прояви патологічної біомінералізації. Застосований комплекс досліджень включав сучасні морфологічні методи. Переконливі результати щодо етапів морфогенезу патологічної біомінералізації отримані завдяки застосуванню імуногістохімічних досліджень, скануючої електронної мікроскопії, імуно- та вестерн-блот аналізу, рентгенівської спектроскопії та атомної силової мікроскопії. Результати статистично оброблені і добре представлені. Тому отримані висновки дисертації є достовірними та повністю відповідають зазначеним завданням дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертантом проведено детальне комплексне дослідження передумов ініціації та прогресування процесів патологічної біомінералізації на фоні захворювань з різною органною локалізацією. Уточнені та доповнені дані про спрямованість компенсаторно-приспосувальних і адаптивних реакцій організму за умов біомінералізації м'яких тканин. Проведене оцінювання клінічного значення та прогностичного потенціалу патологічної мінералізації. Уперше 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. Детально досліджені імуногістохімічні особливості мінералізованої тканини. Виявлене значення експресії S100A9, S100A8, OPN у морфогенезі біомінералізованої тканини різної локалізації та показане значення цих маркерів в оцінюванні перебігу процесу кальцифікації. Детально досліджено морфогенез, прогностичне та діагностичне значення біомінералізації при папілярному раку щитоподібної залози (ПРЩЗ), доброякісній гіперплазії передміхурової залози (ДГПЗ), захворюваннях жовчного міхура та атеросклеротичному ураженні серцево-судинної системи.

Теоретичне значення отриманих результатів полягає у розширенні наукового поняття про морфогенез патологічної біомінералізації, ролі кальгранулінів та остеопонтину (OPN) у виникненні біомінеральних депозитів, особливостях запальних та проліферативних змін, а також процесів апоптозу при різних варіантах мінералоутворення.

Практичне значення результатів дослідження. Результати роботи дадуть можливість проводити профілактичні заходи направлені на попередження формування кальцифікатів, пригнічення їх розвитку та сприятимуть регресу сформованих біомінералів. Створений банк зразків біомінералів різних органів і тканин людського організму (більше ніж 300 зразків) може використовуватися для подальших практичних та наукових розробок. Одержані результати комплексного клініко-морфологічного, фізико-хімічного дослідження різних форм біомінералізації ПРЩЗ дозволять більш диференційовано підходити до діагностики злоякісних пухлин ЩЗ (ЗПЩЗ). Запропоновані морфологічні критерії можуть бути використані в діагностичних алгоритмах канцерогенезу, що дозволить оптимізувати прогнозування клінічного перебігу пухлинного процесу та індивідуалізувати лікування ПРЩЗ за наявності біомінералізації. Показано, що виявлення псамомних тілець у лімфатичних вузлах чи здоровій ЩЗ

є важливою діагностичною ознакою прихованого ПРЦЗ. Досліджено фізико-хімічний склад біомінералів за різної патології людини. Результати досліджень можуть бути використані в онкології, хірургії, ендокринології, патологічній анатомії та фізіології. Отримані дані можуть стати важливими критеріями у діагностиці ЗПЦЗ та вплинути на вибір методів лікування з урахуванням патофізіологічних і патоморфологічних змін, що виникають у досліджуваному органі.

Пріоритетність досліджень підтверджена отриманими корисними моделями: «Спосіб дослідження оптичних властивостей гістологічних зрізів», «Спосіб підготовки біологічних зразків для скануючої електронної мікроскопії».

Результати проведених досліджень впроваджені в дослідницьку та 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.

Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Матеріали дисертаційної роботи опубліковані у 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 РІНЦ, Google Scholar, Index Copernicus, Web of Science), 1 стаття – у вітчизняному виданні, яке індексується у наукометричній базі SCOPUS, 5 статей – у закордонних наукових виданнях (Грузія, Німеччина, Чехія, Польща, Австрія), 4 з них індексуються у наукометричній базі SCOPUS, 17 тез опубліковано у матеріалах науково-практичних конференцій, отримано 2 патенти на корисну модель. Три наукові праці опубліковано одноосібно. В авторефераті лаконічно викладені матеріали дисертаційної роботи, зміст автореферату відповідає змісту дисертації і повністю відображує усі основні положення, висновки та практичні

рекомендації.

Структура і зміст дисертації. Дисертація побудована за загальноприйнятою схемою, викладена українською мовою, містить анотацію, вступ, перелік умовних позначень, основну частину, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Дисертація викладена на 340 сторінках машинописного тексту, обсяг її основної частини – 266 сторінки. В основній частині представлені: огляд літератури, власні дослідження, що складаються з 6 підрозділів й аналізу та обговорення результатів досліджень. Робота ілюстрована 187 рисунками та 17 графіками, таблицями і схемами. Список використаних джерел, анотація, ілюстративний матеріал та додатки займають 74 сторінки. Список літератури включає 362 найменування, з них – 302 іноземних авторів.

Анотація дисертації подана двома мовами, зі списком публікацій здобувача, що віддзеркалюють основні результати дослідження та засвідчують апробацію отриманих матеріалів. Ключові слова відповідають основному змісту наукової праці та відображають тематику дослідження.

У “Вступі”, який викладений на 10 сторінках, дисертант обґрунтовує актуальність теми дисертації, чітко формулює мету і задачі дослідження, наукову новизну і практичну значимість роботи, шляхом критичного аналізу висвітлює зв’язок патологічної біомінералізації із сучасними дослідженнями з визначенням сутності наукової проблеми.

Розділ 1 “Огляд літератури” складається з трьох підрозділів, які викладені на 35 сторінках машинописного тексту, що не перевищує 20 % основного тексту. В даному розділі автор дає повну характеристику стану проблеми на сьогоднішній день та перспективи її розвитку. Послідовно аналізує літературні дані, починаючи з питань фізіологічної біомінералізації та поступово переходить до патологічних станів, що супроводжуються утворенням органо-мінеральних агрегатів з детальним висвітленням сучасних поглядів щодо ролі кальгранулінів у процесах патологічної біомінералізації.

В розділі "Матеріал та методи досліджень" всі використані автором методи дослідження є сучасними, вони уможливають цілком об’єктивну оцінку

утворення патологічних мінералів. Про високий рівень методичної підготовки автора свідчать застосовані в роботі імуногістохімічні маркери.

Перший підрозділ 3.1 розділу 3 “Результати власних досліджень”, включає епідеміологічні дані щодо поширеності захворювань, пов’язаних з патологічною біомінералізацією в Сумській області. В ньому проводиться порівняння їх з загальнодержавними показниками, звертаючи увагу на те, що смертність від ішемічної хвороби серця (ІХС) у Сумській області нижча за середньоукраїнський показник в 1,27 рази, підкреслює що середньорічний темп росту смертності від ІХС склав 100,89 % у Сумській області, середньоукраїнський показник – 100,41%. У середньому кожного року смертність від ІХС зростала на 0,89 % у Сумській області, тоді як середньоукраїнський показник – склав 0,41 %. Поширеність жовчнокам’яної хвороби (ЖКХ) у Сумській області перевищує середньоукраїнський показник у 1,37 рази. Середньорічний темп росту поширеності ЖКХ склав 103,88 % у Сумській області на противагу середньо українському показнику – 99,14 %. В середньому кожного року поширеність ЖКХ зростала на 3,88 % у Сумській області в той час як середньоукраїнський показник мав від’ємне значення (0,86 %). Захворюваність на рак щитоподібної залози у Сумській області вища за середньоукраїнський показник в 1,79 рази. Рівень поширеності і захворюваності чоловічого населення на хвороби передміхурової залози з незначною тенденцією до зростання (в 2007р. - 1797,2 і 532,58 чол. на 100 000 тис. населення, у 2011 р. – 1908,01 і 592,33 чол. на 100 000 тис. населення відповідно).

У підрозділі 3.2 “Морфологічне дослідження аорти та аортальних клапанів за умов патологічної біомінералізації” автор за допомогою імуногістохімічного дослідження проводить порівняння результатів експресії маркерів у тканині аорт з патологічною біомінералізацією (І група) та без неї (ІІ група) та встановлює достовірну різницю між результатами І та ІІ груп для маркерів клітин макрофагального ряду CD68 ($p < 0,001$), компонентів кальпротектинового комплексу - кальгранулінів А (S100A8 - $p < 0,01$) та В (S100A9 - $p < 0,001$), маркера апоптозу Casp3 ($p < 0,05$) та маркера біомінералізації OPN ($p < 0,0001$), в той час як для маркера нейтрофілів MPO достовірної різниці між показниками

досліджуваних груп не було виявлено ($p > 0,05$). Застосування скануючої електронної мікроскопії та рентгенівської фазового аналізу свідчить, що в аортальних клапанах найчастішою фазою патологічної біомінералізації є карбонат-вмісний, дефектний, слабо кристалізований апатит.

У наступному підрозділі 3.3. “Морфологічне дослідження васкулярної біомінералізації при злоякісних пухлинах щитоподібної залози” здобувач у ході порівняння результатів імуногістохімічного дослідження експресії білків у тканині ПРЩЗ встановлює достовірну різницю для білків - компонентів кальпротектинового комплексу - кальгранулінів А (S100A8 - $p < 0,001$) та В (S100A9 - $p < 0,001$), а за даними дифракційних методів підсумовує що основною кристалічною фазою біомінералів ЗПЩЗ є добре структурований гідроксиapatит, часто з домішками β -ТКМФ (бета-три-кальцій-магній фосфату).

У підрозділі “3.4. Морфологічні особливості біомінералізації за умов доброякісної гіперплазії передміхурової залози” дисертант виокремлює достовірну різницю між результатами порівнюваних груп з відкладенням та без накопичення мінеральних сполук для маркерів клітин макрофагального ряду CD68 ($p < 0,001$), компонентів кальпротектинового комплексу - кальгранулінів А (S100A8 - $p < 0,001$) та В (S100A9 - $p < 0,001$), маркера апоптозу Casp3 ($p < 0,01$) та маркера біомінералізації OPN ($p < 0,05$). Для маркера нейтрофілів MPO достовірної різниці між показниками досліджуваних груп не було виявлено ($p > 0,05$). Завдяки використанню патоморфологічних досліджень та методів фізичного матеріалознавства робить висновок, що переважним механізмом утворення конкрементів у простаті є преципітація прямим осадженням із секрету передміхурової залози. Мінеральну основу конкрементів простати складає карбонатний біоapatит з незначним включенням сторонніх хімічних елементів.

У наступному підрозділі 3.5. ‘Особливості морфогенезу біомінералізації при патології жовчного міхура: хронічному холециститі, раку жовчного міхура та порцеляновому жовчному міхурі’ автор висвітлює особливості накопичення гідроксиapatитів у стінці жовчного міхура (ЖМ), так, «стінкові» біомінерали були представлені гідроксиapatитом, а «порожнинні» - карбонатом кальцію з домішками фосфатів.

У підрозділі 3.6. «Патоморфологічне дослідження окремих випадків біомінералізації різних локалізацій» за допомогою методів прикладного матеріалознавства дисертант звертає увагу те, що за виключенням панкреолітів, для яких характерна присутність кальциту, всі конкреції відносилися до кальцій-фосфатного типу біомінералізації, а саме – були представлені гідроксиапатитами.

В останньому розділі "Аналіз та узагальнення результатів дослідження" автор наводить основні положення роботи, які засвідчують реалізацію поставленої мети і задач дисертаційної роботи.

Робота закінчується 10 висновками та практичними рекомендаціями, які повністю відображають матеріали дисертації і ґрунтуються на отриманих автором фактах.

Зауваження та побажання до дисертації та автореферату щодо їх змісту й оформлення. Оцінюючи дисертаційну роботу та автореферат Москаленко Р.А.в цілому позитивно, слід відмітити ряд недоліків:

- у змісті результати власних досліджень логічно було б поділити на розділи, а не підрозділи одного розділу;
- у переліку умовних позначень відсутні скорочення, які повторюються більше двох разів у тексті дисертації, такі як: ЖКХ – жовчнокам'яна хвороба, ЗПЩЗ – злюкисні пухлини щитоподібної залози, ІХС – ішемічна хвороба серця, МРО – мієлопероксидаза;
- групи хворих в розділі «Матеріал та методи дослідження» бажано було б надати в табличному варіанті з урахуванням віку, статі, діагнозу і тривалості, та з критеріями щодо груп включення або виключення пацієнтів в дослідження, наприклад наявність або відсутність гіпертонічної хвороби, цукрового діабету;
- у підрозділі 3.2 «Морфологічне дослідження аорти та аортальних клапанів за умов патологічної біомінералізації» бажано було вказати яка була площа уражень;
- у тексті дисертації зустрічаються поодинокі стилістичні помилки, так на сторінці 44 замість «дедритичних клітин» краще застосувати дендритні клітини, замість «кістовий» на сторінці 58, кістковий мозок;

- окремі мікрофотографії (рис. 3.3.Б, 3.42.Б, 3.66, 3.121) потребують підсилення контрастності для кращого візуального сприйняття. У підпису до рис. 3.29 відсутній метод забарвлення, стан еластичних волокон в рис. 3.30 краще було б визначати відповідним забарвленням, а не гематоксилін-еозином;

- у розділі 4 «Аналіз та обговорення результатів» отримані результати імунофлюоресцентного дослідження логічно було б перенести у відповідні підрозділи власних досліджень, крім цього, в даному розділі бажано більше використовувати порівняння власних результатів з даними інших авторів.

Хотілось би почути думку автора про наступне:

Який з методів, що були застосовані Вами в роботі є найбільш інформативним в діагностиці патологічної біомінералізації?

Який з використаних імуногістохімічних маркерів може бути найбільш раннім та специфічним при початкових проявах патологічної біомінералізації?

В якості дискусії хотілось би почути від дисертанта відповідь на наступне питання: чи сприяє формування депозитів кальцію стабілізації атеросклеротичної бляшки?

Питання стосуються складних дискусійних проблем, не впливають на загальний високий науковий рівень дисертації й не піддають сумніву результати, отримані автором.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.

Виходячи з характеру роботи, доцільне використання її матеріалів у підготовці студентів-медиків як на теоретичних, так і на клінічних кафедрах, а також на курсах підвищення кваліфікації лікарів. Оригінальний, розроблений особисто автором спосіб дослідження оптичних властивостей гістологічних зрізів може бути широко застосований у роботі патологоанатомічних лабораторій.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Таким чином, вважаю, що дисертаційне дослідження Р.А. Москаленко є самостійною, завершеною науково-дослідницькою роботою, яка містить нові науково обґрунтовані результати, що мають істотне теоретичне та практичне значення для медицини, в сукупності вирішують важливу наукову проблему

щодо покращення якості морфологічної діагностики хвороб пов'язаних з 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. Вказані зауваження не є принциповими відносно суті роботи і стосуються трактування результатів або характеру їх викладення та не зменшують наукової цінності дисертації.

В цілому дисертаційна робота Р.А. Москаленко "Патоморфологічні особливості біомінералізації м'яких тканин" є актуальною, методологія виконання відповідає сучасним стандартам морфологічних досліджень, результати мають велику практичну значимість – все це дозволяє вважати, що дисертація відповідає встановленим вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р., № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р.) щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Офіційний опонент, професор кафедри
патологічної анатомії, судової медицини та права
Вінницького національного медичного
університету імені М.І. Пирогова
доктор медичних наук

С.В. Вернигородський

