

ВІДГУК

на дисертацію Тихолаза Віталія Олександровича “Закономірності розвитку структур довгастого мозку людини у пренатальному періоді онтогенезу та при мальформаціях”, подану на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія до спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Актуальність обраної теми дисертації

Вивченню центральної нервової системи, зокрема, довгастому мозку присвячена велика кількість наукових досліджень, які висвітлюють його еволюційний розвиток, морфологію та функціональне значення. Що стосується морфології і становлення ядер довгастого мозку людини протягом внутрішньоутробного періоду онтогенезу, то такі повідомлення у доступній літературі в основному датуються 60-70 роками минулого сторіччя. Оскільки макро- і морфометричні показники структур довгастого мозку плодів людини не поновлювалися останні 40-50 років, тому, згідно даних ВООЗ, є необхідність поновлювати стандарти та індекси для оцінки стану здоров'я людини у різні вікові періоди протягом онтогенезу кожні 15-20 років.

Нейральні стовбурові клітини протягом останніх двох десятиріч активно вивчаються. Це пов'язано з вирішенням передусім прикладних задач: створення можливостей для відновлення тканин і органів ушкодженого або старіючого організму і, як наслідок, для поліпшення якості і продовження життя інвалідів. Попри це, дослідження морфології нейтральних стовбурових клітин відкривають новий клас питань фундаментального характеру, вирішення яких може мати не менше, а можливо, більш вагоме значення для розвитку біологічної науки, медицини та біотехнологій. В останні роки одним з перспективних напрямків у лікуванні нервової системи стає трансплантація стовбурових клітин, джерелом яких можуть слугувати фетальні тканини людини, ембріональні стовбурові клітини, отримані методом соматичного

клонування. Таким чином, значення результатів дослідження морфології розвитку довгастого мозку у клінічній практиці не викликає сумніву.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Проведене дослідження є фрагментом комплексної наукової роботи кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Встановлення закономірностей органогенезу і топографії внутрішніх органів грудної, черевної порожнини, а також структур центральної нервової системи плодів людини (макроскопічне, гістологічне, імуногістохімічне та УЗ-дослідження). Порівняння отриманих даних з аналогічними у плодів з вродженими аномаліями розвитку» (№ державної реєстрації 0113U005070).

Новизна, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Новизна отриманих у роботі результатів впливає з постановки мети і конкретних завдань дослідження. В дисертаційній роботі Тихолаза В.О. встановлені макрометричні параметри довгастого мозку у плодів людини без вад розвитку та у сіамських близнюків, у плода людини з баштовим черепом, зі щілиною хребта, з крижово-куприковою тератомою та аненцефалією. Проведено порівняльний аналіз та виявлені зміни даних параметрів у плодів людини з вадами розвитку. Автором уперше за допомогою якісних і кількісних морфологічних методів на основі комплексного аналізу нейронних комплексів довгастого мозку досліджено послідовність структурних змін, які відбуваються в епендимному шарі, рухових, чутливих та вегетативних ядрах протягом пренатального періоду онтогенезу людини. За допомогою комп'ютерної гістометрії встановлено зміни розмірів базальної та крилоподібної пластинок в межах ромбоподібного мозку. За допомогою імуногістохімічних маркерів досліджено процеси проліферації, апоптозу та диференціювання попередників нейронів, які відбуваються в епендимному

шарі та нейронних комплексах довгастого мозку. Застосований автором методичний підхід, який передбачає дослідження процесів нейрогенезу та диференціювання нейронів забезпечує комплексний та новаторський характер дисертаційної роботи. Дотримання принципів доказової медицини дозволило сформулювати морфогенетично обґрунтовані висновки та практичні рекомендації щодо застосування результатів роботи в практичній медицині.

Достовірність отриманих автором результатів забезпечується достатньою кількістю об'єктів дослідження (230 ембріонів та плодів людини). Формування вікових груп (14) забезпечує вимоги репрезентабельності і відтворюваності. Вибір методів дослідження (анатомічні, нейрогістологічні, імуногістохімічні, морфометричні та статистичні) достатній для реалізації мети і конкретних завдань представленої роботи. Дисертація документована великою кількістю мікрофотографій із гістологічних препаратів високої якості та таблиць і графіків, які вдало і повно ілюструють скрупульозний опис виявлених якісних і кількісних змін. Застосований алгоритм морфометричного дослідження дозволяє забезпечити встановлення закономірностей розвитку структур довгастого мозку людини протягом пренатального онтогенезу. Застосування метричних показників площі, розмірів нейронних комплексів, окремих нейронів та їх ядер, виявлених при світлооптичному, імуногістохімічному аналізі, дають можливість відстежити характер, вираженість та динаміку змін, які відбуваються в ядрах довгастого мозку в процесі внутрішньоутробного розвитку та відіграють визначальну роль у забезпеченні нормального розвитку структур довгастого мозку та становлення функції. Такий комплексний підхід відрізняє представлену роботу від аналогічних. Значимість і достовірність метричних параметрів підтверджена адекватним статистичним аналізом.

За висновком комісії з питань біомедичної етики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (витяг з протоколу засідання Комітету біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова № 11 від 16.10.2014 р.) робота виконана з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції

про захист прав та гідності людини у зв'язку із застосуванням досягнень біології та медицини (1996) та матеріали дослідження не заперечують основним біоетичним нормам Гельсінської декларації про етичні принципи проведення науково-медичних досліджень за участю людини прийнятої 59-ою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 році.

Дисертація побудована за традиційною схемою і включає всі передбачені вимогами нормативних документів розділи: анотація українською та англійською мовами, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, матеріал і методи дослідження, 6 розділ власних досліджень, аналіз й узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел та додатки.

У вступі чітко сформульовано мету і конкретні завдання роботи та способи їхньої реалізації, адекватно відображено актуальність, наукову та практичну цінність дисертації, показано особистий внесок здобувача, достатнє оприлюднення результатів дослідження.

Розділ 1 “Огляд літератури” складається з чотирьох підрозділів. У підрозділі 1.1 “Стан дослідження вітчизняними науковцями пренатального розвитку структур центральної нервової” автор описує дослідження ембріогенезу головного та спинного мозку вітчизняними вченими. У підрозділі 1.2 “Наукові погляди стосовно морфогенезу довгастого мозку у пренатальному періоді онтогенезу людини” детально описано утворення нервової трубки, клітинний склад її шарів, радіальна глія та її участь в міграції прогеніторних клітин, а також сучасні погляди на розвиток структур довгастого мозку в пренатальному періоді онтогенезу людини. В наступному підрозділі 1.3 “Нейроспецифічні білки як маркери диференціювання попередників нервових та гліальних клітин довгастого мозку” надано характеристику білків-маркерів, які частіше від інших застосовують у наукових дослідженнях присвячених індукції нейронального диференціювання, особливу увагу автор акцентує на специфічності даних маркерів як нейрональних. Останній підрозділ 1.4 “Стан вивчення

структури довгастого мозку у плодів людини з вадами розвитку” містить опис та узагальнення даних стосовно дослідження довгастого мозку у плодів людини з мальформаціями. Визначення мети і завдань дослідження органічно впливає з критичного осмислення сучасного стану проблеми, що дозволило цілком аргументовано сформулювати конкретну наукову задачу, яка має суттєве значення для теоретичної нейроморфології і практичної неврології, та накреслити способи її розв’язання з урахуванням сучасних методичних підходів.

Розділ 2 “Матеріали і методи дослідження” містить характеристику досліджуваних ембріонів та плодів людини, опис їх відбору та застосованих методик. Предмет дослідження (макро-, морфометричні параметри довгастого мозку, епендимний (нейроепітеліальний) шар, радіальна глія, ядра довгастого мозку людини протягом пренатального періоду онтогенезу людини та у плодів людини з вадами розвитку), анатомічні, макрометричні, загальні гістологічні, нейрогістологічні, імуногістохімічні методи, алгоритм морфометричного дослідження достатньо інформативні та адекватні меті, дозволяють у повному обсязі реалізувати конкретні завдання, поставлені в дисертаційній роботі. Застосування методів параметричної та непараметричної статистики для аналізу конкретних метричних параметрів указує на глибоке розуміння автором суті досліджуваних процесів. Особливо слід відзначити надзвичайно вивірений із точки зору доказової медицини методологічний підхід до вирішення поставлених завдань.

Результати власних досліджень представлені в 6 розділах. В розділі 3, який представлений двома підрозділами автором описано морфометричні параметри ромбоподібного мозку у ембріонів людини 6-7 тижнів та макрометричні параметри довгастого мозку у плодів людини в залежності від гестаційного терміну. В даному розділі за допомогою статистичних методів дослідження автором встановлено статистично значимі відмінності у розмірах крилоподібної та базальної пластинок на різних рівнях ромбоподібного мозку, а також відмінності у розмірах довгастого мозку у плодів людини, виявлені

періоди швидкого та повільного росту довгастого мозку в пренатальному онтогенезі людини.

В розділі 4 представлені результати дослідження гістоморфології епендимного шару та радіальної глії довгастого мозку у плодів людини без аномалій розвитку та з мальформаціями. В даному розділі описані не лише якісні зміни епендимного шару в процесі пренатального онтогенезу, а також надані та статистично опрацьовані результати морфометрії. Розділ містить детальний та висококваліфікований опис мікропрепаратів та засвідчує високий рівень гістологічної техніки. Застосування імуногістохімічних маркерів дозволило автору встановити особливості процесів проліферації та апоптозу, які відбуваються в клітинах епендимного шару в процесі пренатального періоду онтогенезу людини.

Надзвичайно цікавими з точки зору теоретичної нейроморфології та ембріології є матеріали 5, 6, 7 та 8 розділів, в яких представлені результати дослідження змін в процесі пренатального онтогенезу структури та морфометричних параметрів ядер довгастого мозку. Автором детально показано хронологію змін, що відбуваються в ядрах в кожній наступній гестаційній групі, опрацьовано та надано статистично значимі відмінності морфометричних параметрів ядер, встановлені періоди швидкого та повільного їх росту, встановлено асинхронний характер змін в ядрах довгастого мозку. В даних розділах описано послідовні зміни структури та морфометричних параметрів нервових клітин у плодів людини. Кожен з розділів складається з кількох підрозділів, перші підрозділи слугують базою порівняння для наступних підрозділів. Отримані дані вигідно відрізняються від проведених раніше досліджень завдяки можливості співставлення характеру та особливостей поєднаних морфологічних змін у ядрах довгастого мозку в процесі внутрішньоутробного розвитку, що надає можливість створити цілісну картину динаміки змін у нейронних комплексах, нейронах та їхніх ядрах. Ще однією родзинкою даних розділів, на мій погляд, є широке застосування скрупульозного імуногістохімічного аналізу, завдяки якому

вдалось отримати дані стосовно термінів диференціювання нейронів та встановлення синаптичних зв'язків. Побудова 5, 6, 7 та 8 розділів свідчить про високу наукову ерудицію В.О. Тихолаза, що проявилось у вдалому підборі ілюстрацій та їхньому описі, даних морфометричного аналізу, які дозволяють проводити глибокі морфо-функціональні паралелі.

Розділ "Аналіз і узагальнення результатів дослідження" містить глибокий аналіз отриманих даних, який ґрунтується на співставленні результатів власних досліджень із літературними даними. Критичне осмислення результатів власних досліджень, порівняльний аналіз спільних рис і особливостей структурних, макрометричних та морфометричних змін, які відбуваються протягом пренатального онтогенезу дозволило автору встановити загальні закономірності розвитку структур довгастого мозку під час внутрішньоутробного розвитку. Здобувач переконливо довів відмінності структурних та метричних параметрів утворів довгастого мозку у плодів людини з мальформаціями.

Робота завершується формулюванням висновків, які повністю відповідають поставленим у роботі меті і завданням та логічно впливають із конкретних даних, отриманих автором.

Об'єм роботи складає 334 сторінки принтерного тексту, із них основний текст - 264 сторінки. Дисертація ілюстрована 29 таблицями і 64 рисунками. Усі ілюстрації високої якості вдало підібрані та переконливо ілюструють опис виявлених змін, засвідчують високий рівень гістологічної техніки. Список літератури містить 364 джерел, із них 91 - кирилицею, 273 латиницею. Дисертація написана літературною мовою з дотриманням українського списку Міжнародної гістологічної та анатомічної номенклатури.

Завершеність роботи, повнота викладу основних результатів роботи

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Представлена робота має важливе значення для теоретичної нейроморфології та практичної медицини з огляду на те, що в ній вперше встановлено хронологію змін макрометричних параметрів довгастого мозку у

плодів людини під час пренатального періоду онтогенезу та виявлені періоди прискорених темпів росту довгастого мозку у внутрішньоутробному періоді розвитку людини. Автором вперше встановлено вікові особливості клітинного складу епендимного шару четвертого шлуночку та виявлені закономірності його будови у ембріонів та плодів людини, вивчена морфологія радіальної глії в довгастому мозку та встановлені особливості її вікових змін протягом пренатального періоду онтогенезу людини. Вперше встановлені закономірності зміни площі ядер, нейробластів та ядер нейробластів довгастого мозку у ембріонів та плодів людини, виявлені темпи інтенсивного та повільного їх росту, а також доведено їх асинхронний характер змін під час внутрішньоутробного періоду розвитку. Виявлені уперше закономірності експресії імуногістохімічних маркерів віментину, S-100, синаптофізину, Ki-67, Bcl-2 в довгастому мозку у ембріонів та плодів людини різного гестаційного віку. Усе вищезазначене є вагомим внеском у вирішення актуальної для нейроморфології і нейробіології проблеми визначення особливостей структурної організації довгастого мозку у пренатальному періоді онтогенезу людини. Здобувачем вперше встановлені органо-, гісто- та цитометричні параметри та особливості структури довгастого мозку у плодів людини з мальформаціями. Сформульовані здобувачем закономірності розвитку структур довгастого мозку людини у пренатальному періоді онтогенезу можуть стати основою для подальшого вивчення морфогенезу довгастого мозку на спеціально відібраному матеріалі від матерів із певною клінічною патологією, а також еталоном для вивчення розвитку довгастого мозку в екологічно несприятливих регіонах.

Завершеність роботи, повнота викладу основних результатів роботи в наукових виданнях

Робота являє собою завершене самостійне наукове дослідження. Основні положення дисертаційної роботи повністю висвітлені в 27 публікаціях, із них 20-у фахових наукових виданнях України, 2 - у журналах

інших країн. 6 статей опубліковано у виданнях, що індексуються в міжнародних наукометричних базах Web of Science та РІНЦ. Матеріали дослідження оприлюднено у 5 тезах доповідей на наукових конгресах та конференціях. Матеріали дисертації апробовані на міжнародних та національних з міжнародною участю конгресах, симпозиумах та конференціях.

Автореферат оформлений згідно вимог нормативних документів, за змістом і основними положеннями ідентичний до дисертації.

Зауваження та побажання до дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення

1. У підписах до окремих мікрофотографій зі зображенням клітин доцільно було б їх ідентифікувати.
2. Частину тексту, який містяться в резюме до окремих розділів, на мою думку, слід було б помістити в розділ аналіз та узагальнення результатів досліджень.
3. Трапляються поодинокі граматичні помилки та стилістичні неточності.

У процесі рецензування роботи виникло ряд запитань до здобувача:

1. Відомо, що антитіла до білка S100 є маркером клітин глії. Як би ви пояснили експресію даного маркера в нейронах ядер довгастого мозку?
2. Чому у плодів людини з вадами розвитку, які не пов'язані з порушенням формування ЦНС виникають структурні та морфометричні зміни в довгастому мозку?

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці

Встановлені в роботі закономірності зміни структур довгастого мозку людини у пренатальному періоді онтогенезу та при мальформаціях можуть бути враховані при створенні посібників, монографій та керівництв із анатомії, нейроморфології, нейрохірургії, гістології та ембріології, впроваджені в навчальний процес на відповідних кафедрах та використані в науковій роботі

10
профільних лабораторій із метою розробки нових способів діагностики та розвитку ЦНС.

Висновок

Дисертаційна робота Тихолаза В.О. «Закономірності розвитку структур довгастого мозку людини у пренатальному періоді онтогенезу та при мальформаціях» є завершеною (у межах поставлених завдань) самостійною науковою працею, в якій отримано нові наукові положення та науково обгрунтовані результати, що в сукупності є вагомим внеском у вирішення актуальної для анатомії та нейроморфології науково-прикладної проблеми що виявляється у встановленні закономірностей морфо- і гістогенезу, змін макрометричних параметрів довгастого мозку і каріоцитометричних показників нейронних комплексів довгастого мозку у пренатальному періоді онтогенезу людини та виявленні їх особливостей у плодів людини з вадами розвитку.

Дисертація Тихолаза Віталія Олександровича «Закономірності розвитку структур довгастого мозку людини у пренатальному періоді онтогенезу та при мальформаціях» повністю відповідає п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 і № 567 від 27.07.2016, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.01 - нормальна анатомія.

Завідувач кафедри анатомії людини
Одеського національного
медичного університету,
д.мед.н., професор



[Signature]
О.Л. Холодкова

*Гідпис завідувача кафедри анатомії людини ОНМУ У, професор Холодкова О.Л. завідаючий
Згенер. секретар ОНМУ У, професор*

[Signature]
Васильченко Р.С.