

РЕЦЕНЗІЯ

кандидата біологічних наук, доцента, доцента кафедри морфології Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету

Гринцової Наталії Борисівни,

на дисертаційну роботу Сікори Катерини Олексіївни та тему:

«Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів»,

подану для здобуття ступеня доктора філософії

в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Актуальність теми дисертації

Важкі метали входять до переліку найбільш небезпечних та найпоширеніших антропогенних забруднювачів довкілля та перевищують гранично допустимі рівні у декількох регіонах України та світу. Проблема полягає в тому, що не всі метали є токсичними, а переважна їх більшість у порогових концентраціях вважається есенціальними для організму мікроелементами, необхідними для розвитку та функціонування. Саме тому, будь яке порушення їх балансу в оточуючому середовищі несе потенційну загрозу для екосистеми та організмів, що її населяють.

На сьогоднішній день предметом дискусії багатьох вчених залишається вивчення особливостей погіршення репродуктивного здоров'я на тлі зростаючої кількості екологічно-обумовлених причин. Так, забруднене довкілля сприяє розвитку метал-індукованих розладів органів репродуктивної системи, що в кінцевому підсумку супроводжується збільшенням причин жіночого безпліддя або розвитку патології різноманітного генезу (від запальних процесів до пухлинної трансформації). При цьому, механізми взаємозв'язку важких металів та порушення жіночого репродуктивного здоров'я на генетичному, епігенетичному та біохімічному рівнях на порядок складніші, різносторонні та майже непередбачувані. Враховуючи значення матки у жіночому організмі для генерації наступних поколінь, а також вплив її нормального функціонування на якість життя, вивчення механізмів розвитку її патології заслуговує особливої уваги. При

цьому, у літературі майже не зустрічається даних щодо повного розуміння розвитку порушень у матці як на тлі дії важких металів на організм, так і після тривалої експозиції у відновний період.

Іншим важливим напрямом сучасних досліджень є пошук різноманітних природніх та штучних сполук із захисними та детоксикаційними властивостями для попередження та зниження впливу важких металів, а також їх накопичення в організмі. Однак, численні механізми та наслідки дії полютантів ускладнюють пошук універсального засобу, який міг би нівелювати їх потрапляння до організму, пригнічувати акумулятивний потенціал та зменшувати їх дію. Одним з таких перспективних засобів є вітамін Е, який володіє численними, позитивними для організму, властивостями, а інколи виступає в ролі прямого антагоніста для більшості важких металів. Незважаючи на це, даних щодо розуміння механізмів ефективного використання вітаміну Е для індукції впливу мікроелементозу в світовій літературі не має.

Виходячи з вище наведеного, експериментальне дослідження морфофункціональних особливостей матки щурів та хімічного складу її тканини в умовах впливу на організм важких металів та після їх відміни, а також за умов корекції їх впливу вітаміном Е є надзвичайно актуальним і важливим.

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

Дисертаційне дослідження виконане у відповідності з планом наукових досліджень кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету та являється складовою частиною науково-дослідних робіт № 0119U100887 «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів», № 0121U100472 «Розробка методу інтраопераційної діагностики злоякісних пухлин за допомогою флюорофор-кон'югованих антитіл до молекул раково-ембріонального антигену» та № 0123U100111 «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та

«циклооксигеназ». Тема дисертаційної роботи була затверджена на засіданні Вченої ради Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України (протокол №4 від 14.11.2019).

3. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

У процесі виконання дисертаційної роботи, використовуючи широкий спектр сучасних методів дослідження, проведено комплексне дослідження особливостей будови матки для узагальнення фізіологічних вікових параметрів, її функціональних властивостей, характеру експресії окремих білків і біоелементного вмісту.

За результатами дослідження вперше було оцінено та обґрунтовано термін-залежні гістологічні трансформації у матці щурів різного ступеня виразності та інтенсивності, зумовлені впливом важких металів. Морфологічні розлади характеризувалися гетерогенністю дистрофічних, гіперпластичних, гіпертрофічних, дегенеративно-атрофічних, дезорганзаційних, запальних та циркуляторних порушень. У той же час, аналіз гістоморфометричних параметрів вказував на виражену варіабельність динамічних змін товщини структурних шарів матки самиць, як важливого індикатора змін.

Дисертанткою вперше описано та порівняно інтенсивність накопичення цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому на тлі експозиції сумішшю важких металів у різні терміни, а також проаналізовано характер накопичення кожного елемента у тканині матки. Окрім високих показників акумуляції важких металів на 30-ту добу експерименту, було також помічено тенденцію до зменшення інтенсивності їх накопичення з пролонгацією експерименту до 90-то діб.

Вперше розроблена схема розуміння порушення експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, шаперонів та супероксиддисмутази 1, як потенційних маркерів діагностики. Це поглиблює знання щодо перебігу порушень у матці щурів за умов впливу важких металів та дає можливість прогнозувати інтенсивність та ступінь відновлення після їх відміни у реадаптаційний період.

Під час проведення дослідження, вперше було проведено порівняльну характеристику ефективності впливу вітаміну Е на морфологічні, морфометричні, імуногістохімічні, імунофлуоресцентні та спектрофотометричні показники матки щурів під час модельованого впливу важких металів, а також статистично доведено і описано роль коректору у забезпеченні резистенції органа для протидії накопичення хімічних елементів. На основі отриманих результатів, рекомендується розглядати застосування вітаміну Е як ефективного засобу для зменшення акумулятивного потенціалу хімічних елементів і зниження пов'язаних з ними патологічних змін у стінці матки для розроблення експериментальних детоксикаційних протоколів і нівелювання дії важких металів.

Встановлено та сформовано концепцію розвитку відновних механізмів у матці щурів на 90-ту добу після відміни дії важких металів на організм, а також за умови застосування вітаміну Е у період дії солей важких металів на організм.

4. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Виконане дисертаційне дослідження дозволило виявити залежність патоморфологічних трансформацій в стінці матки від показників накопичення хімічних елементів та тривалості дії експериментальної суміші солей важких металів на організм щурів, а також після їх відміни. Отримані результати дають змогу детально описати перебіг морфометричних перебудов структурних компонентів матки та розкривають їх взаємозв'язок з інтенсивністю накопичення важких металів у різні терміни експерименту. Рекомендована панель діагностичних біомаркерів, яка сформована на аналізі імунопрофілю тканини, поглиблює розуміння перебігу порушень у матці щурів за умов впливу важких металів та дає можливість прогнозувати інтенсивність та ступінь відновлення після їх виключення у реадаптаційний період.

На основі отриманих результатів, рекомендується розглядати застосування вітаміну Е як теоретичне підґрунтя для розроблення детоксикаційних протоколів з метою нівелювання впливу важких металів на організм.

Отримані результати можна використовувати при вивченні відповідних розділів навчального матеріалу на теоретичних та практичних кафедрах, так як вони поглиблюють знання щодо особливостей діагностики порушення гомеостазу матки щурів, зумовлених впливом важких металів, перебігу компенсаторно-приспосувальних процесів та прогнозування можливих наслідків у відновний період. Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес та наукову роботу кафедр морфологічного та патологоанатомічного спрямування.

5. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Дисертаційне дослідження Сікори Катерини Олексіївни виконано на високому методичному рівні. Матеріали повністю відповідають вимогам щодо оформлення документації при виконанні дисертацій. Основні наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, логічно випливають з одержаних результатів та є достатньо обґрунтованими. Висновки та положення дисертації відповідають поставленій меті та завданням дослідження, є достовірними, оскільки базуються на аналізі одержаних результатів з використанням достатнього за обсягом досліджуваного матеріалу маток від 80 самок щурів, які об'єктивно були поділені на групи та серії. Модель експерименту, всі поводження з тваринами та експериментальні процедури проводились відповідно до керівних принципів з догляду та використання лабораторних тварин без порушень морально-етичних норм, які повністю відповідали рекомендаціям 2.0 «Дослідження на тваринах: Звітування про експерименти *in vivo*» (ARRIVE). Окрім цього, при формуванні експериментальної моделі дотримувалися концепції 3Rs, зокрема заміна, скорочення та удосконалення. Комісія з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету погодила експериментальний дизайн (протокол при плануванні № 2/10 від 10.10.2019 р. та протокол при завершенні № 3/5 від 16.05.2023 р.) та ухвалила, що дане наукове дослідження відповідає вимогам Європейської конвенції по захисту хребетних

тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.), директиви Європейського парламенту та ради ЄС від 22.09.2010 р. та «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), закону України «Про лікарські засоби», 1996, ст. 7, 8, 12, керівництву ICH GCP (2008 р.), GLP (2002 р.), відповідно до вимог та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Методики дослідження є сучасними і адекватні вирішенню завдань дослідження: мікроскопічний аналіз морфологічних змін матки при гістологічних, імуногістохімічних та імунофлюоресцентних дослідженнях; цитологічний аналіз вагінальних мазків, морфометрія структурних компонентів органа та атомно-абсорбційна спектрофотометрія її тканини, а також статистична обробка цифрових даних. Статистичний аналіз даних здійснено в повному обсязі, їх вірогідність не викликає сумнівів. Нормальність розподілу даних перевіряли за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Для порівняння незалежних даних застосовували t-критерій Стьюдента та однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з поправкою за Бонферроні. Кореляцію між показниками оцінювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена. Результати вважалися статистично значущими з вірогідністю понад 95 % ($p < 0,05$). Статистичний аналіз проводили в програмі GraphPad Prism 9.2.

6. Структура та зміст дисертації

Дисертаційна робота написана українською мовою та викладена на 174 сторінках (загальний обсяг 223 сторінки). Текст дисертації як за змістом, так і редакційно викладено та оформлено якісно. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури (3 підрозділи), матеріалів та методів дослідження (8 підрозділів), результатів власних досліджень (4 підрозділи), аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Рукопис містить список з 240 джерел цитованої літератури. Дисертація ілюстрована 63 рисунками та 16 таблицями.

Дисертаційна робота починається з анотації двома мовами, 15 ключових слів і списку 17 публікацій за темою дисертації, які написані державною та англійською мовами. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У вступі автор всебічно обґрунтовує актуальність теми дисертаційної роботи, формулює мету, завдання, об'єкт та предмет дослідження, вказує новизну і практичне значення отриманих результатів, а також акцентує увагу на особистий внеску та апробація матеріалів дисертації.

Перший розділ «Огляд літератури» присвячено відомостям про біологічну роль важких металів у навколишньому середовищі. Другий – висвітлює особливості впливу важких металів на організм. Третій розділ присвячений ознайомленню з анатомо-фізіологічними особливостями будови матки. Огляд літератури закінчується висновком автора, зробленим на основі аналізу наукової літератури та ще раз підкреслює актуальність обраної теми.

У другому розділі «Матеріали і методи дослідження» викладено дизайн дослідження, який об'єднує експериментальну модель (експериментальну суміш, групи та серії тварин) та широкий спектр сучасних методів дослідження, який включає мікроскопічний аналіз будови стінки матки щурів з використанням гістологічних (забарвлення гематоксилином та еозином), морфометричних (програмне середовище «ZEN 2 (blue edition)» з вбудованими цифровим мікрометром та обчислювальними функціями), імуногістохімічних та імунофлюоресцентних (вивчення експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, білків теплового шоку 90α та супероксиддисмутази 1) методик; атомно-абсорбційне дослідження тканин та статистичний аналіз (параметричний t-критерій Стьюдента, однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з поправкою за Бонферроні та коефіцієнт кореляції Спірмена). Всі розрахунки та графіки були зроблені за допомогою програмного пакету статистики GraphPad Prism® (версія 9.2).

«Результати власних досліджень» висвітлено у чотирьох підрозділах. Перший підрозділ присвячений аналізу патоморфологічних змін матки щурів за умов впливу важких металів та одержання коригуючого засобу вітаміна Е на тлі вживання води з ВМ. У другому підрозділі оцінюється морфометричні зміни товщини матки щурів на тлі впливу важких металів та одержання коригуючого засобу вітаміна Е на тлі вживання води з ВМ. У третьому підрозділі вивчалися імуногістохімічні особливості матки щурів за умов впливу важких металів та одержання коригуючого засобу вітаміна Е на тлі вживання води з ВМ. Четвертий підрозділ присвячений характеристиці вмісту хімічних елементів у тканині матки щурів за умов впливу важких металів та одержання коригуючого засобу вітаміна Е на тлі вживання води з ВМ.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень» висвітлює детальний порівняльний аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень, основні положення роботи, співставлення отриманих даних з даними наукової літератури, їх теоретичне обґрунтування. Дисертант не тільки підсумовує одержані дані, але й порівнює їх з результатами досліджень інших авторів та кваліфіковано і аргументовано дає оцінку виразності та інтенсивності виявлених змін, а також ефективності застосування коректора. Основні положення доповнюються численними таблицями, рисунками та схемами.

Дисертантом сформульовано та науково обґрунтовано 6 висновків та 4 практичні рекомендації, які логічно випливають з одержаних результатів і відповідають завданням дослідження.

Список використаних джерел охоплює 29 сторінок, який сформовано в порядку появи посилань в тексті та оформлених за встановленим стандартом (стиль Ванкувер). Рукопис завершується додатками, що містять список опублікованих праць за темою дисертації, перелік апробації результатів дисертації та цифрові дані проведених досліджень.

Дисертаційна робота повністю відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, відповідно Постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та

« скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії».

7. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

Кількість і рівень опублікованих робіт відповідають сучасним вимогам. За темою дисертації опубліковано 17 наукових праць: 5 статей, зокрема 2 статті у періодичних наукових фахових виданнях України (1 стаття у журналі категорії «Б» та 1 стаття у журналі категорії «А», що індексується наукометричною базою даних Scopus), 3 статті у закордонних журналах, які індексуються у наукометричній базі даних Scopus; 11 тез доповідей у матеріалах Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій (4 індексуються наукометричною базою даних Web of Science Core Collection); отримано 1 патент України на корисну модель. 4 роботи опубліковані одноосібно.

8. Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях

Результати дисертаційної роботи апробовано дисертантом у роботі 11 Всеукраїнських та міжнародних конференцій та семінарах українською і англійською мовами. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць: 5 статей, з яких 2 – у наукових фахових виданнях України (1 стаття у журналі категорії «Б» та 1 стаття у журналі категорії «А», що індексується наукометричною базою даних Scopus), 3 – у закордонних журналах, що індексується наукометричною базою Scopus (3 та 4 квартилів), 11 тез доповідей у матеріалах Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій (4 індексуються наукометричною базою даних Web of Science); отримано 1 патент України на корисну модель. Автором особисто апробовано результати дисертаційної роботи на численних конференціях як в Україні, так і за кордоном.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії «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.

9. Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

У дисертаційній роботі Сікори Катерини Олексіївни на тему «Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів» не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом представленого наукового дослідження (протокол перевірки роботи системою StrikePlagiatism Sumy State University від 05.09.2023р.). Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел.

10. Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження

Принципових недоліків щодо змісту, структури, обсягу, оформлення, науково-теоретичного та практичного значення, висновків представленої дисертаційна робота не має, проте є окремі зауваження:

1. У розділі «Матеріали і методи» на Рис.2.1 бажано додати позначення.
2. Інколи по тексту зустріються граматичні помилки.
3. Зустрічаються декотрі неточності щодо гістологічних назв тканин, що формують шари стінки матки.
4. Беручи до уваги дані щодо естроген-подібних властивостей важких металів, було б цікаво перевірити особливості змін рівня гормонів у крові піддослідних щурів-самиць у різні фази естрального циклу щурів.

Перелічені у процесі рецензування роботи недоліки не носять принципового характеру і не впливають на достовірність результатів та висновків, і ніскільки не зменшують оригінальності, масштабності і значимості дослідження.

У порядку дискусії бажано б почути відповідь на такі питання:

1. На Вашу думку, які структурні компоненти стінки матки щурів є найбільш вразливими до дії важких металів?

2. Чому для дослідження тканини матки були вибрані саме її роги?

3. Згідно результатів Ваших досліджень, який важкий метал накопичувався найбільше та мав найгіршу тенденцію до виведення з тканини матки?

11. Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Сікори Катерини Олексіївни «Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів» є завершеною науково-дослідною працею, яка містить наукові положення та науково обґрунтовані результати проведених безпосередньо авторкою досліджень у медичній галузі науки. Проведені дослідження вирішують важливе завдання, що стосується особливостей патоморфологічних змін матки щурів за умов надлишкового надходження до організму солей важких металів, пошуку важливих діагностичних критеріїв оцінки та прогнозування їх впливу, ефективності застосування вітаміну Е для зменшення ініційованих порушень.

Дисертація Сікори Катерини Олексіївни за актуальністю, методичними підходами, новизною отриманих результатів, їх практичному значенню, об'ємом досліджень та рівнем методичного вирішення поставлених задач повністю відповідає всім вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а дисертантка, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Рецензент:

к.б.н., доцент, доцент кафедри морфології

Сумського державного університету



Наталія ГРИНЦОВА

