

ВІДГУК

**офіційного опонента, доктора медичних наук, професора
Гаргіна Віталія Віталійовича, професора кафедри патологічної анатомії
Харківського національного медичного університету,
на дисертаційну роботу Сікори Владислава Володимировича
«Морфологічні зміни в сечовому міхурі за умов впливу солей важких
металів»,**

**поданої до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03
при Харківському національному медичному університеті
на здобуття вченого ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія**

Актуальність теми

Етіологічні чинники розвитку трансформації слизової сечового міхура (СМ) в теперішній час залишаються остаточно невідомими. Зокрема, більшість авторів пов'язують зміни СМ з тривалим подразненням слизової оболонки; при цьому вважається, що інфекційний процес є основним подразником. Гормональний дисбаланс вважають одним з факторів розвитку плоскоклітинної метаплазії. Однак досить часто відомостей про наявність попередніх патологічних процесів в анамнезі хворих з трансформацією слизової СМ отримати не вдається. Одночасно, слід визнати наявність екологічно забруднених регіонів в Україні, яка робить дослідження, пов'язані з впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища на людину, актуальними як з медичної, так і соціальної точки зору. Слід визнати, що одним з найбільш несприятливих факторів зовнішнього середовища є солі важких (СВМ) металів і цикл робіт, присвячений наслідкам їх впливу на організм людини, що вийшов під керівництвом А.М. Романюка, дозволяє стверджувати про створення в Сумському державному університеті морфологічної школи з унікальними можливостями досліджень мікроелементозів, яка вже запровадила великі очікування від робіт, що виконані в цій школі з не тільки формалізованим вирішенням наукового завдання, а й застосування методів дослідження, що досить не часто використовуються у вітчизняних наукових роботах, заснованих на об'єднанні різних наукових галузей.

Однією із складових успішності медичних заходів у боротьбі з будь-яким патологічним станом є дослідження його патогенезу. Щодо досліджень, пов'язаних з тканинною трансформацією, важко переоцінити визначення

морфогенезу, виявлення зовнішніх або внутрішніх факторів, які впливають на появу та перебіг патологічного процесу, оскільки такі зміни є важливою ознакою вірогідності непластичної трансформації. Встановлення патогенезу розвитку передпухлинних станів та змін, визначення особливостей відкривають широкі можливості для профілактики онкологічних процесів шляхом виявлення ранніх передракових змін і їх своєчасного лікування із застосуванням як хірургічних, так і терапевтичних методів. Все вище наведене й визначило мету дослідження, а саме підвищення якості діагностики патоморфологічних змін СМ за умов комбінованого впливу СВМ та визначення шляхів їх корекції шляхом проведення експериментального дослідження. Для досягнення вказаної мети були поставлені 6 адекватних задач та визначено напрямки в методичних підходах.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертації Сікори В.В. «Морфологічні зміни в сечовому міхурі за умов впливу солей важких металів» є частиною науково-дослідної теми кафедри патологічної анатомії медичного інституту Сумського державного університету № 0113U003315 «Морфогенез загально-патологічних процесів». Автор є співвиконавцем теми.

Новизна дослідження та одержаних результатів

За ходом проведеного дослідження отримано результати, які можна оцінювати як пріоритетні. Автором уперше на експериментальній моделі проведено комплексне дослідження особливостей морфо-функціонального стану та мікроелементного складу СМ щурів за умов дії на організм суміші СВМ, а саме цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому з визначенням адаптаційних перетворень в усіх компонентах стінки СМ; встановлена залежність інтенсивності характеру і ступеня виразності змін у СМ від терміну впливу поллютантів.

За ходом роботи уперше описано морфологічне обґрунтування взаємозв'язку між порушенням мікроструктурної організації стінки міхура та ступенем накопичення хімічних елементів у тканині органа й сечі в різні терміни експерименту та встановлено, що за умов запропонованої корекції патогенної дії

важких металів (ВМ) вітаміном Е відбуваються зменшення та уповільнення розвитку патологічних процесів та описано морфогенез реадаптації.

Автором уперше застосовано запропоновану ним комбінацію імуногістохімічних маркерів, що дають підставні відомості про патогенез впливу ВМ на морфо-функціональний стан СМ та дозволяють не тільки верифікувати, але й надають можливість прогнозувати наслідки дії ВМ, при цьому встановлено роль та взаємозв'язок між дисбалансом активності окисних реакцій і консервативності супероксиддисмутази.

Теоретичне значення результатів дослідження

Результати роботи мають вагомим значення для розробки нових заходів профілактики, діагностики та лікування патологічних станів СМ, у тому числі непластичних. На підставі отриманих даних розкрито нові ланки етіології та патогенезу розвитку тканинної трансформації. Отримані результати можуть бути використані як підстава для формування принципів адаптаційного захисту СМ та корекції патологічних процесів у ньому в умовах високого вмісту ВМ довкілля з розробкою профілактичних заходів, спрямованих на попередження ушкоджень СМ.

Практичне значення результатів дослідження

Отримані дані можуть бути достатньо широко впроваджені в практичну діяльність лікарів-патологоанатомів, оскільки дозволяють оцінювати патологічні зміни СМ, як наслідок впливу СВМ на тканини органу. Урахування при діагностиці змін СМ визначених морфологічних та молекулярно-біологічних критеріїв несприятливого прогнозу дозволить прогнозувати перебіг патологічних станів та сприятиме диференційному підходу до профілактики та лікування. Отримані дані показують взаємозв'язок між рівнем накопичення ВМ у тканині та/або сечі та морфологічними прогностичними чинниками несприятливого перебігу контамінації полютантами СМ, морфологічні ознаки сприятливих адаптаційних змін.

Зокрема, автор встановив важливість визначення герметичності шару

глікозаміногліканів на поверхні уротелію, що дозволяє прогнозувати стан слизової оболонки міхура за умов впливу агресивних компонентів сечі.

Розроблено панель імуногістохімічної верифікації пошкодження тканини з урахуванням стану окисного гомеостазу та його взаємозв'язку зі ступенем пошкодження тканини СМ внаслідок оксидативного стресу, що є унікальним для нашої держави.

Автор отримав дані, які можуть бути підставою для запровадження використання вітаміну Е у якості коригувального засобу для профілактики та зниження негативного впливу СВМ та інших екзогенних шкідливих чинників із подібною патогенною дією.

Корисним для будь-яких експериментальних робіт, які потребують збір сечі тварини, буде запропонований контейнер для збору сечі у дрібних лабораторних тварин.

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

Для досягнення поставленої мети та рішення завдань дослідження дисертантом проведено експериментальне дослідження на 84 білих лабораторних щурах-самцях з формуванням достатніх за обсягом дослідних груп та виконано комплексне дослідження з великим обсягом фактичного матеріалу. За ходом експерименту автором підібрана комбінація найпоширеніших та потенційно небезпечних СВМ, характерних для забруднених районів України (Сумщини, Київщини, Донеччини та ін.) та світу, а саме цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю, хрому.

Шляхом використання комплексу сучасних методів (гістологічних, гістоморфометричних, гістохімічних та імуногістохімічних досліджень стінки СМ, атомно-абсорбційної спектрофотометрії тканини органа та сечі) автором отримані цифрові дані, які були основою для подальшої побудови взаємопов'язаних ланок патогенезу трансформації СМ за наявності ВМ у зовнішньому середовищі. Отримані внаслідок проведеного дослідження числові дані та показники оброблено методами математичної статистики з обчисленням

параметрів, що підтверджують якісні зміни тканини СМ цифровими показниками.

У цілому дисертація оформлена за традиційною побудовою у відповідності з вимогами ДАК України щодо кандидатських дисертацій та містить вступ, аналітичний огляд літератури, розділ «Матеріали та методи досліджень», розділ власних досліджень, розділ, присвячений аналізу і узагальненню результатів досліджень, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки.

У вступі автор розпочинає з відображення уявлень про морфофункціональні особливості СМ, починаючи від ембріогенезу органа з детальним описом мікроскопічної будови як на тканинному, так й клітинному рівні, з описом рецепторних особливостей органа притаманних для фізіологічного стану, кровопостачання, іннервації СМ.

Далі автор переходить до опису відомостей про зміни органа під впливом різноманітних факторів, зокрема інтоксикації хімічними речовинами, радіації, мікроорганізмів, гіпотермії, формування спонтанного гіперактивного СМ, особливості СМ при діабеті, обструкції сечових шляхів, літіазі, під впливом куріння, пестицидів, численних полютантів, інсектицидів, та, що важливо, наводить поодинокі відомості про вплив ВМ.

Поступово автор переходить до опису ролі ВМ у навколишньому середовищі та життєдіяльності організму, при чому, що важливо, вказує синергічні та антагоністичні відносини, акцентує увагу на зростанні ризиків захворюваності різного генезу в населення, що проживає у промислово-розвинених урбанізованих місцях, забруднених регіонах, описує наслідки у організмі людини. Також автор дає характеристику мікроелементів, вплив яких він буде описувати у подальших розділах.

Завершує огляд автор описом антиоксидантних властивостей вітаміну Е та його застосування для корекції впливу СВМ. Наприкінці кожного з підрозділів огляду автор робить пояснення щодо неясних або недостатніх відомостей, таким чином навіть без загального резюме у читача складається враження про необхідність провести дослідження, саме у тому напрямку, що обрав автор, враховуючи, що вагомим тлумачень щодо розкриття механізмів комбінованої дії

полютантів та корегуючої терапії на СМ не знайдено та, як наслідок, мета та завдання дослідження виглядають обґрунтованими.

Слід визнати, автору вдалося досконало проаналізувати літературні джерела.

Розділ «Матеріали та методи досліджень» послідовно та досконало описує експеримент, який було поставлено для досягнення мети дослідження, а саме розподіл тварин на групи, обґрунтування використаних доз СВМ та вітаміну Е, гістологічні, гістохімічні, гістоморфометричні, імуногістохімічні методи, атомно-абсорбційне спектрофотометричне дослідження, статистичні методи дослідження.

На нашу думку автором помилково віднесено забарвлення альціановим синім до гістологічних методів, оскільки метод спрямовано на визначення глікозаміногліканів, тобто він є гістохімічним, проте це має скоріше суто механічною помилкою у цьому випадку, оскільки далі за ходом роботи автор інтерпретує результати отримані за допомогою цього методу абсолютно кваліфіковано. Набор визначення рецепторів, що автор використовує для імуногістохімічного дослідження безумовно є унікальним для вітчизняних робіт.

Власні дослідження автор починає описувати з морфологічних особливостей СМ тварин контрольної групи. За ходом роботи наведено ретельний аналіз мікроскопічної будови з морфометричними даними рецепторного апарату, результатів атомно-абсорбційної спектрофотометрії на всіх термінах експерименту, що дозволило констатувати загальні закономірності морфологічної та структурної будови СМ, та, відповідно, ґрунтуючись на отриманих даних у подальшому аналізувати характер та глибину перетворень у стінці органа при вживанні суміші СВМ у підвищених концентраціях у різні терміни експерименту та за умов реадaptaції. Порядок опису морфологічних змін автор дотримується й при проведенні усіх подальших досліджень.

У подальшому автор переходить до опису груп тварин, які отримували суміш СВМ та корегуючу терапію.

Автором отримані данні, що свідчать про кількісні та якісні зміни структурних компонентів СМ у кожному періоді змодельованого вживання суміші ВМ з залученням усіх структур органа. Найінтенсивніші темпи розвитку

зазначених патоморфологічних змін спостерігалися у підгострій період (30 діб) з поступовим сповільненням їх виразності на 90 добу, що автор інтерпретує як прояв адаптації організму при зміні умов існування. Одним з важливих чинників таких змін автор вважає трансформацію у слизовій оболонці зі зниженням герметичності шару ГАГ на тлі збільшення екскреції ВМ з сечею. Одночасно із збільшенням товщини стінки СМ спостерігається й зміна кумулятивних властивостей мінерального компоненту.

За умов комбінованого впливу СВМ та вітаміну Е морфогенез змін значно відрізнявся від контрольних показників, проте ці трансформації були не такими інтенсивними та менш виразними в порівнянні з попередньою групою. Зокрема, імуногістохімічне дослідження уротелію показало, що активність його проліферативного потенціалу та індукція захисних білків залишалися на достатньо високому рівні протягом всього терміну. Аналіз проведених досліджень допоміг встановити, що вживання вітаміну Е призводить до зменшення впливу ВМ у стінці СМ на клітинному рівні, що проявляється блокуванням та мінімалізацією їх патологічних механізмів. Таким чином, саме застосування вітаміну Е для профілактики та захисту СМ від сполук СВМ протягом 30 та 90 діб сприяло вірогідному зниженню інтенсивності морфологічних перетворень.

Характеристикою патоморфологічних змін у стінці СМ за умов реадaptaції після впливу суміші СВМ без та на тлі вживання коригуючої терапії у відновний період після припинення дії СВМ (це два окремих підрозділи) автор продовжує розділ власних досліджень.

Автором встановлено, що після відміни 90-денного вживання суміші сполук ВМ відбуваються помірні реадaptaційні трансформації структурних компонентів СМ. Через 30 діб відновного періоду дещо гальмується розвиток та зменшується швидкість утворення патологічних змін, а подовження терміну реадaptaції допомогло ідентифікувати тенденцію до повільного, проте неповного, відновлення структури компонентів СМ при якому накопичення хімічних елементів у тканині органа все ще значно перевищує порогові показники.

За умов корекції впливу СВМ вітаміном Е виявлено зменшення

інтенсивності змін у структурній організації СМ. Сумарний аналіз дослідження органа показує менш виражений характер перебудов, що розкриває різноспрямованість отриманих результатів та їх залежність від коригуючої терапії у період після поступлення комбінації ВМ.

Складається враження, що наступний підрозділ розділу власних досліджень, а саме «Характеристика патоморфологічних змін у стінці сечового міхура на тлі пролонгації застосування коригуючої терапії після відміни вживання солей важких металів» виник вже за результатами даних, що було наведено раніше, враховуючи фактичні дані про антиоксидантні та протекторні властивості вітаміну Е. Автором встановлено стійкі реадaptaційні процеси, виявленні на морфологічному рівні, та незначно збільшенні показники мікроелементів у складі стінки СМ й сечі шурів цієї серії, що свідчить про активацію відновних механізмів з позитивною тенденцією, що сприяє поступовому наближенню всіх параметрів серії до вихідних контрольних даних

Завершує розділ власних досліджень дуже важливий підрозділ, присвячений аналізу взаємозв'язків отриманих цифрових даних.

У цілому, в розділах власних досліджень автор детально на високому методичному рівні наводить виявлені морфологічні зміни та надає цифрові морфологічні показники, які кваліфіковано зіставляє.

Робота ілюстрована достатньою кількістю якісних кольорових мікрофотографій, таблицями та діаграмами, що підтверджують правоту основних положень, що висуваються дисертантом. Показником зрілості автора є те, що він у розділах власних досліджень наводить тільки дані, що отримані при виконанні дисертаційної роботи та не намагається робити висновки або припущення, логічно доводячи свої думки у фінальній частині кожного підрозділу.

Розділ «Узагальнення та обговорення результатів дослідження» написано з високим професіоналізмом, переконує в широкій обізнаності автора в досліджуваній проблемі та вмінні аналізувати отримані дані. Враховуючи отримані дані автор переконаний, важливим елементом захисту є стан поверхні уротелію та його властивість перешкоджати здатності ВМ спричиняти пошкодження клітини. Автор аналізує й інші захисні механізми клітин СМ,

зокрема поведінку білка теплового шоку (Hsp90 α), який бере активну участь у захисті клітин. Проте, на тлі вживання ВМ значно посилюється генерація представників НАДФ-оксидази, що проявляється гіперекскрецією NOX1 і NOX4. У відповідь на це спостерігається зростання активності супероксиддисмутази на 30-ту добу з подальшим зменшенням її активності при пролонгації дослідження. Імуногістохімічно описаний автором оксидативний стрес є важливим наслідком дії ВМ.

Автор вказує, що СМ піддається дії ВМ двома шляхами. По-перше, потрапивши в організм, іони металів всмоктуються в шлунково-кишковому тракті і надходять до СМ по кровоносних судинах, насичуючи тим самим його стінку. По-друге, різке зростання рівня хімічних елементів до надвисоких концентрацій у сечі тварин свідчить про прямий та тривалий контакт з клітинами уротелію, пригнічуючи та долаючи основні захисні бар'єри СМ.

Надходження СВМ до організму супроводжується швидким виснаженням та порушенням функціонування компенсаторно-захисних механізмів, які у нормі активно протидіють акумуляції та токсичному впливу хімічних елементів. Автором доведено, що порушення окисного гомеостазу супроводжується посиленою генерацією пероксидів та вільних радикалів, як наслідок надлишкове утворення небезпечних АФК. У цей же час, зростання рівня ензимів антиоксидантного захисту забезпечую дисмутацію оксидноактивних аніон-радикалів, чим блокує та ізолює продукцію киснезалежних хімічних реакцій. У свою чергу тривале виснаження протекторних механізмів організму зумовлює зменшення активності антиоксидантної системи захисту. За рахунок цього реалізується біологічний редокс-дисбаланс з порушенням цілісності біологічних мембран клітин та розвитком оксидативного стресу.

Висновки логічно витікають з отриманих результатів, відповідають меті дослідження. Практичні рекомендації являють собою цінний посібник для лікарів-патологоанатомів у плані дослідження СМ.

Таким чином, автором виконано багатопланове дослідження на високому методичному рівні та на кількості матеріалу достатньому для отримання вірогідних даних. Усі висунуті наукові положення і практичні рекомендації, а

також висновки, сформульовані дисертантом, логічно витікають із отриманих результатів дослідження та достатньо аргументовані.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

Зміст автореферату й 19 опублікованих праць, (зокрема 7 статей, з яких 6 – у наукових фахових виданнях України (в тому числі 1 стаття у виданні, що індексується базою даних Web of Science), 1 – в іноземному журналі, який індексується наукометричною базою Scopus, 1 патент України на корисну модель), повністю відображають основні положення дисертації й рекомендації для практичної медицини.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту й оформлення

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

За текстом дисертації та автореферату встановлена невелика кількість технічних помилок (які не впливають на якість роботи), зокрема, граматична помилка наявна навіть у назві підрозділу 3.7. (Аналіз взаємозв'язків між цифровими показниками досліджень сечового міхура). Також на нашу думку більш коректним до назви процесу отримання візуалізації тканинних структур є термін «забарвлення», в той час як автор використовує «фарбування».

Безумовно, трохи більше резюме після огляду літератури, як ми вже вказували, сприяло би більш логічному переходу до підрозділів присвячених матеріалам та методам досліджень, власним дослідженням.

В процесі рецензування виникли **питання**:

1. Результати Вашої роботи демонструють значну різницю в акумуляції цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому. На Вашу думку, дія яких елементів найбільш небезпечна для сечового міхура?

2. Який шлях впливу важких металів має більш вагомі наслідки: надходження з сечею чи з кров'ю?

Зроблені зауваження не мають принципового характеру та не знижують наукової цінності виконаної автором роботи.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Отримані Сікорою В.В. дані мають бути широко впроваджені в учбовий процес кафедр патологічної анатомії та гістології вищих навчальних медичних закладів України при вивченні стану сечовидільної системи, в практичну діяльність патологоанатомічних відділень лікарських закладів при дослідженні біоптатів СМ, науково-дослідними закладами при проведенні досліджень тканинної трансформації як епітеліальної, так і інших тканин. Від автора дисертаційної роботи слід очікувати розповсюдження наукових ідей, викладених у дисертації, шляхом розсилки методичних рекомендацій за результатами виконаної роботи.

Дисертаційна робота Сікори В.В. підтверджує, що патологічні процеси СМ є морфологічно і генетично гетерогенними. Зокрема уротеліальні ураження включають в себе спектр морфологічних змін від реактивної атипії до карциноми *in situ*. Диференціювання цих уражень надзвичайно важливо у практичній роботі тому, що клінічний результат відрізняється між ними. Наприклад відомо, що атипія неясного значення і реактивні уротеліальні зміни для практичних цілей можуть розглядатися як єдине ціле, тому що ні в жодного з них, як видається, немає пренеопластического потенціалу, проте такі зміни можуть мімікрувати пухлинний процес. У той же час надзвичайно важливим є розуміння того, які процеси можуть привести до пошкодження тканин СМ, і, безумовно, робота, яка представлена, допомагає вирішити й діагностичні завдання патологоанатомічної практики.

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Таким чином, дисертаційна робота Сікори Владислава Володимировича на тему «Морфологічні зміни в сечовому міхурі за умов впливу солей важких металів», яка подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за

спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія є закінченим, виконаним самостійно науковим трудом, завершеною кваліфікаційною науковою працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, наведене теоретичне узагальнення й нове вирішення наукової задачі, а саме підвищення якості діагностики патоморфологічних змін сечового міхура за умов впливу на організм солей важких металів, а також розширено уявлення про можливості корекції виявлених змін, що повністю відповідає пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р, зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 № 656, від 30.12.2015 № 1159, від 27.07.2016 № 567, а дисертант заслуговує присвоєння вченого ступеня кандидата медичних наук.

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

