

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук,

професора Пастухової Вікторії Анатоліївни

на дисертаційну роботу Очеретної Наталії Петрівни

«Морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри та за умов застосування інфузійних комбінованих гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження)»,

представлену для офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 05.600.02

у Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова

для здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія

1. Актуальність обраної теми дисертації.

Кандидатська дисертація Очеретної Наталії Петрівни «Морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри та за умов застосування інфузійних комбінованих гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження)» є оригінальною і своєчасною морфологічною роботою, яка має соціальне і клінічне спрямування.

Несприйнятливість організму до впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища і патогенних агентів сформована імунною системою. Основним фактором, відповідальним за розвиток інфекції в опікових ранах, є поєднання ослабленого загального та місцевого протимікробного імунного захисту організму з порушенням бар'єрної функції шкіри. Тому вивчення органів імунної системи при опіках шкіри є перспективним.

Лікування хворих з опіками пов'язано із певними труднощами, оскільки незважаючи на впровадження досягнень реаніматології, інтенсивної терапії, респіраторної підтримки, частота розвитку поліорганної недостатності і септичних ускладнень залишається достатньо високою. Стратегія і тактика лікування опікової хвороби та попередження септичних ускладнень відноситься до числа складних і до кінця невирішених проблем сучасної медицини. Запровадження в останні роки широкого застосування інфузійно-

трансфузійної терапії ставить нові завдання пошуку експериментальних моделей, які дозволять дослідити і порівняти ефективність комбінованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів в комбустіології.

Все це потребує удосконалення існуючих підходів і розробку та обґрунтування нових програм лікування для запобігання тяжкого перебігу опікової хвороби та дозволяє вважати дане дослідження актуальним.

Актуальність поставлених завдань не викликає сумнівів, так як морфофункціональні зміни у селезінці відіграють значну роль у компенсаторно-приспосувальних реакціях усього організму.

Аналіз наукової літератури свідчить, що науковцями морфологічної школи Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пірогова були оприлюднені результати дослідження, присвяченого вивченню морфології селезінки у пізні терміни після опіку шкіри. В той час робіт по вивченню морфологічних змін селезінки у ранні терміни після опіку шкіри, не існує.

Тому дисертаційна робота Очеретної Наталії Петрівни, у центрі досліджень якої знаходяться завдання з визначення особливостей морфологічних проявів пошкодження та компенсаторних змін у селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб у нормі та після опікової травми шкіри при застосуванні інфузійних розчинів 0,9 % NaCl, лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5 %, є актуальною та своєчасною.

2. Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в опублікованих працях.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій не викликає сумнівів і визначається використанням в дисертаційній роботі якісно та кількісно репрезентативної вибірки. Роботу виконано на 180 лабораторних білих щурах-самцях масою 155-160 г, яких було розподілене на 6 груп: 1-а, 2-а і 3-я групи – щури без термічної травми, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl, ЛП, HAES-LX-5 % та 4, 5 і 6-а групи щурів, яким проводили інфузію даних розчинів в аналогічній дозі після експериментального термічного опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 %

поверхні тіла, що за індексом тяжкості ушкодження відповідає опіковому шоку середнього ступеня важкості.

У ході дослідження використовувались сучасні та адекватні меті і завданням методи. Ступінь інтоксикації при опіковій хворобі визначали за рівнем молекул середньої маси та лейкоцитарним індексом інтоксикації.

Гістологічне та ультраструктурне дослідження селезінки проводили за стандартними методиками.

Стереологічні дослідження тканин селезінки визначили об'ємну щільність (відносний об'єм, $\text{см}^3/\text{см}^3$) червоної і білої пульпи селезінки.

Вміст ДНК в ядрах загального пулу клітин селезінки щурів визначався методом проточної цитометрії, де визначали: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.); G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с); IP – індекс проліферації, який визначається за сумою показників S + G2 + M; BP – блок проліферації та фрагментацію ДНК (апоптоз).

Статистична обробка отриманих результатів проводилась у пакеті "Statistica 6.1" із застосуванням непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати дисертаційного дослідження детально проаналізовані, документально підтверджені достатньою кількістю таблиць (8), рисунків (89) і логічно висвітлені.

Проведене дисертаційне дослідження вперше на підставі використання сучасних гістологічних, електронно-мікроскопічних, стереометричних, цитометричних і статистичних методів дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки в нормі та у ранні терміни після термічного опіку шкіри та встановити особливості їх змін за умов застосування інфузійних розчинів ЛП, НАЕС-LX-5 %.

Автором отримано нове вирішено нове наукове завдання щодо визначення структурних змін селезінки через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри за умов корекції дистрофічних і деструктивних змін інфузійними розчинами.

Робота виконана з дотриманням норм біоетики, про що свідчить протокол №17 від 18.10.2012 та протокол №5 від 03.07.2018 р.

Результати досліджень повністю викладені у 12 наукових працях (з них 6 самостійних), серед яких 9 статей опубліковано в фахових наукових журналах (з яких 3 включені до міжнародних наукометричних баз, 1 з них відноситься до бази Web of Science).

3. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Результати комплексного морфологічного дослідження селезінки у ранній період після опікової травми шкіри, свідчать про розвиток негативних гісто- та ультраструктурних змін деструктивно-дистрофічного характеру структурних компонентів селезінки щурів, а також характеристик клітинного циклу і фрагментації ДНК у клітинах селезінки, що визначає необхідність застосування лікувальних заходів. Позитивні зміни в селезінці щурів після термічного опіку шкіри на фоні застосування інфузійних розчинів ЛП або НАЕС-LX-5 %, визначають доцільність та перспективність їх використання у разі виникнення тяжких опіків шкіри.

Матеріали досліджень впроваджені у навчальний процес кафедр анатомії людини та гістології ВНМУ ім. М. І. Пирогова; кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедр анатомії людини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Запорізького державного медичного університету, ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України".

4. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації.

Загальний обсяг роботи складає 209 сторінок машинописного тексту українською мовою. Основний текст викладено на 122 сторінках. Список використаних джерел нараховує 263 роботи, з яких 188 викладені кирилицею та

75 – латиницею. Структура дисертації відповідає типовій схемі представлена на сторінках (з яких сторінок основного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, а також двох додатків.

В **Анотації**, поданій українською і англійською мовами, стисло наведені основні положення дисертаційної роботи.

У **Вступі** відображена актуальність обраної теми; її зв'язок з науковими програмами, планами, темами; мета та завдання дослідження; об'єкт та предмет, методи дослідження; представлена наукова новизна та практичне значення одержаних результатів.

Автором представлений **аналітичний огляд** сучасних літературних джерел, який викладений на 19 сторінках, і містить три підрозділи, у яких проаналізовано морфо-функціональні зміни у селезінці при дії різних ендо- та екзогенних факторів на організм, існуючі методи корекції наслідків опікової інтоксикації організму та морфологічні прояви пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін в селезінці після опікової травми шкіри.

Огляд написаний цікаво, логічно, грамотною літературною мовою і переконливо підводить до сформульованих дисертантом мети та завдань дослідження. У дискусійній манері проаналізовані сучасні вітчизняні та зарубіжні літературні джерела. В кінці 1-го розділу автор робить акцент на положеннях, що потребують подальшого дослідження. Форма аналізу літератури показує високу ерудицію здобувача.

У **другому розділі** “Загальна методика й основні методи дослідження”, який викладений на 11 сторінках, детально описана методика проведення дослідження. Закономірно і логічно акцентована увага на методах дослідження, які використовувалися у роботі: макроскопічні, гістологічні, електронно-мікроскопічні, біохімічні, лабораторні, стереологічні, цитометричні та статистичні. Прикрашають розділ фотографії досліджуваних щурів та гістологічний рисунок змін в шкірі після опіку.

Третій розділ «Зміна макроскопічних, гістологічних і стереометричних параметрів у селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри на фоні застосування інфузійних розчинів» акумулює результати досліджень, які відображають особливості макроскопічних, мікроскопічних змін і стереометричних параметрів у селезінці щурів без опіків і після опікової травми. Тому, доцільніше було б додати в назву розділу фразу «...щурів без опіків шкіри та...після опікової травми».

У розділі показано, що у селезінці щурів, яким вводили 0,9% розчин NaCl, відбуваються дистрофічні процеси в лімфоцитах та макрофогах, у кровоносних судинах спостерігається повнокрів'я та утворення тромбів. У щурів, яким після опікової травми вводили ЛП, НАЕС-LX-5 % на світлооптичному рівні дистрофічні та деструктивні процеси значно менше виражені, виявляючи таким чином нефропротекторні властивості гіперосмолярних розчинів.

Приведені цікаві дані щодо динаміки змін об'єму білої та червоної пульпи селезінки щурів за умов введення різних інфузійних розчинів.

Розділ викладений на 31 сторінці і містить три підрозділи, проілюстрований 25 рисунками. Крім того, результати, які подані у даному розділі, підтверджуються цифровими даними 2 таблиць.

Розділ закінчується коротким узагальненням і приведено список публікацій, в яких відображено матеріал цього розділу.

Четвертий розділ «Ультраструктурні зміни в селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри та застосування інфузійних розчинів» На ультраструктурному рівні виявлено, що інфузія 0,9% розчину NaCl після опіку шкіри не протидіяла розвитку деструктивних змін клітин строми та паренхіми селезінки, які прогресивно наростали від 1-ї до 7-ї доби спостереження. В той же час, проведені дисертанткою дослідження структурних змін селезінки щурів з експериментальною травмою шкіри, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом, показали, що інфузія цього розчину призводить до гальмування альтерації клітин органа. Селезінки у щурів цієї експериментальної групи відрізняються менш вираженими змінами структури і, відповідно, більш збереженими функціональними можливостями клітин порівняно з такими у опечених

щурів, яким вводили ізотонічний розчин натрію хлориду.

Даний розділ містить два підрозділи, має обсяг 38 сторінок, проілюстровано 50 якісними рисунками. Закінчується розділ коротким узагальненням і приведено список публікацій, в яких висвітлено його матеріали.

П'ятий розділ «Клітинний цикл і фрагментація ДНК в клітинах селезінки щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та застосування інфузійних розчинів», викладено на 20 сторінках, присвячений вивченню стану клітинного пулу селезінки щурів при введенні інфузійних розчинів. Встановлено наявність патологічної індукції апоптозу та порушень синтетичних процесів після опіку, активацію механізму компенсації патологічного впливу термічного ушкодження через 7 діб за умов застосування лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %, які сприяють більш ефективному процесу оновлення клітин селезінки шляхом стимуляції синтезу ДНК та меншого рівня апоптозу, особливо при застосуванні НАЕС-LX-5 %.

В підсумку до розділу описуються певні закономірності формування імунної відповіді селезінки на опікове пошкодження при введенні колоїдних гіперосмолярних розчинів.

Розділ проілюстрований 10 рисунками та містить цифрові дані у 6 таблицях.

Розділ «**Аналіз і узагальнення результатів досліджень**» викладений на 17 сторінках. У ньому дисертанткою проведено глибокий об'єктивний аналіз отриманих результатів, які співставлені із даними літератури, що дозволяє пересвідчитися в актуальності, новизні роботи та її практичному значенні. Для обговорення отриманих результатів використано достатній обсяг сучасної наукової літератури. Розділ написано логічно та кваліфіковано, що свідчить про наукову зрілість здобувачки.

Висновки роботи обґрунтовані, відповідають поставленим завданням, логічно випливають зі змісту дисертаційного дослідження, а їх об'єктивність і новизна не викликають сумнівів.

Список наукових публікацій оформлений відповідно рекомендованого у «Vancouver style» і включає 263 джерела (188 – латиницею, 75 – кирилицею). Літературні джерела здебільшого належать до останнього десятиріччя.

У додатках А, Б які викладені на 14 сторінках, автором представлені список публікацій здобувача (А), відомості про апробацію результатів дисертації та акти впровадження результатів дисертаційного дослідження (Б).

В авторефераті надаються стислі дані дисертаційної роботи, його зміст відповідає основним положенням дисертації. Автореферат оформлено згідно з існуючими вимогами.

5. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Проведені дослідження розширюють і поглиблюють знання про механізми перебудови селезінки за умов експериментальної термічної травми II-III ступеня, та за умов корекції інфузійними розчинами. Результати дисертаційної роботи можуть бути впроваджені в навчальний процес кафедр анатомії людини, гістології, цитології і ембріології, патологічної анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії медичних вищих навчальних закладів України і зарубіжжя. Отримані дані проведеного наукового дослідження, можуть використовуватися як в теоретичній морфології, так і в практичній медицині: хірургії, комбустіології, інтенсивній терапії, реанімації та реабілітації, і, отже, можуть в подальшому впроваджуватися у практичну діяльність відповідних лікувально-профілактичних установ.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації.

Принципових зауважень у змісті та оформленні дисертації та авторефераті немає. Серед недоліків, які не впливають на загальну позитивну оцінку роботи, слід вказати:

1. У тексті зустрічаються поодинокі стилістичні та друкарські помилки, невдалі вислови (стор. 23, 29, 45, 102, 119).
2. Назву препарату треба уніфікувати, бо зустрічається як лактопротеїн, так і лактопротеїн.
3. На електронномікроскопічних фотографіях:

- рис.4.4. викликає сумнів, що під цифрою 3 - каналці ендоплазматичного ретикулума. Скоріш за все це клітина з ознаками набряку за межами плазмоциту;
- деякі позначки не відповідають підписам під рисунком (6 на рис. 4.7., 2 на рис. 4.18, 5 на рис. 4.39, 5,7 на рис. 4.40, 5 на рис. 4.43, 1 на рис. 4.46), деякі взагалі відсутні (7 та 8 на рис. 4.7, 4 на рис 4.27);
- на деяких фотографіях із-за великого збільшення по фрагментам дуже важко віддиференціювати ту чи іншу клітину (рис. 4.9, 4.10, 4.13, 4.15);
- на рис.4.29 треба було відмітити всі етапи апоптоза (ущільнення, розпад ядра на частини, фрагментація) – дуже показова фотографія!

Крім зауважень до автора є запитання:

1. Дуже важливе значення при всіх видах опіків має визначення глибини та площі пошкодження. У Вашому експерименті площа опікового ураження становила 2-а по 13,86 см². Якій площі і якому ступеню за глибиною ураження це відповідає у людини?

2. Чи можете Ви виділити основний механізм дії комбінованих гіперосмолярних розчинів на морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри?

7. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертація Очеретної Наталії Петрівни «Морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри та за умов застосування інфузійних комбінованих гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження)», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01– є закінченою науковою працею, в якій нове вирішення наукового завдання щодо визначення структурних змін селезінки через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри та за умов корекції дистрофічних і деструктивних змін у селезінці інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %. Доведено, що застосування лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 % сприяють більш ефективному процесу оновлення клітин селезінки шляхом стимуляції синтезу ДНК та меншого рівня апоптозу, особливо при застосуванні НАЕС-LX-5 %. Дисертація відповідає п.11 «Порядку

присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 та зі змінами, внесеними в Постановах КМ № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016, щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія.

Завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України, доктор медичних наук, професор



В.А. Пастухова

