

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу асистента кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова **Булько Ірини Віталіївни «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»**, подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д.05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І.Пирогова МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія

1. Актуальність обраної теми. В останні десятиліття все більш зростає зацікавленість до пізнання ролі органів імунної системи як важливій ланці компенсаторно-приспосувальних реакцій усього організму. Функцію адаптивного імунітету, що визначає клітинний і гуморальний гомеостаз організму, здійснюють органи імунної системи. Її морфологічну основу складає лімфоїдна тканина, організована у функціональні утворення, найбільшим з яких є селезінка. Дисертація присвячена актуальній проблемі – встановленню морфологічних змін структури селезінки щурів у віддалені терміни після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротейну з сорбітолом або 5% HAES-LX.

Експериментально доведено високу чутливість селезінки до впливу чинників різного генезу і здатність однією з перших в організмі реагувати адаптивними змінами в морфологічній структурі. Ці факти визначають можливість використання селезінки в якості експериментального об'єкта для оцінки імуномодуючої дії зовнішніх чинників. Під контролем імунної системи знаходиться функціонування дуже багатьох органів і систем організму.

Актуальність проблеми обумовлена не лише науково-медичними обставинами, але й соціальним та економічним значенням. В останні роки фахівці відзначають значне зростання частоти локальних глибоких опіків, коли зона пошкодження не перевищує 10% поверхні тіла. Однак лікування таких постраждалих є серйозною медико-соціальною проблемою.

Розробка і впровадження в клініку нових засобів і виробів медичного

призначення для лікування опіків дозволяє наблизити вирішення актуальної задачі оптимізації лікування і реабілітації постраждалих з термічними опіками шкіри.

Отримані результати досліджень дають можливість з'ясувати характер і ступінь вираженості пошкоджень, а також пристосувальних та компенсаторних процесів у структурних компонентах селезінки через 14, 21 та 30 діб після експериментальної опікової травми шкіри. У літературі не міститься даних про комплексне дослідження, яке було проведене в цьому напрямку.

Таким чином, робота І.В. Булько, що присвячена встановленню морфологічних змін у селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті, є актуальною та своєчасною, має значний інтерес для теоретичної та практичної медицини.

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

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій визначається використанням в дисертаційній роботі якісно та кількісно репрезентативного матеріалу (200 білих статевозрілих щурів-самців масою 160 - 200 г). В ході дослідження використовувались сучасні та адекватні меті та завданням методи: експериментальні; морфологічні (органометричні, загальногістологічні, морфометричні, електронно-мікроскопічні); лабораторні (визначення молекул середньої маси за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом) та статистичні. Детально проаналізовані результати дисертаційного дослідження логічно викладені українською літературною мовою та документально підтверджені достатньою кількістю графіків і таблиць. Висновки відповідають меті та завданням дослідження, логічно витікають з отриманого дисертантом фактичного матеріалу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у встановленні та систематизації морфологічних проявів порушень клітинного циклу клітин

селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів та при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX 5%. Автором уперше описані зміни структури селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов застосування нового кровозамінника HAES-LX 5%, а також розчину лактопротеїну із сорбітолом. Уперше встановлено особливості активації та розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки у відповідь на застосування колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX 5%, та препарату порівняння – розчину лактопротеїну з сорбітолом, що є морфологічним проявом їх імуномодельючої дії.

Заслуговує схвалення методичний підхід автора. Використані експериментальні моделі опікової травми шкіри адекватні та близькі до природної патології.

Отримані дані повністю висвітлені у 11 наукових публікаціях. 7 статей опубліковано у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України (шість статей – без співавторів). Слід зауважити, що дані дисертаційного дослідження достатньо презентовані на наукових форумах високого рівня, науково-практичних конференціях з міжнародною участю.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Вперше були встановлені ультраструктурні морфометричні дані лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки свідчать, що застосовування лактопротеїну з сорбітолом впливало на розподіл і функціональну активність лімфоцитів селезінки.

Проведене дослідження доповнює існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри. Доповнено та розширено існуючі уявлення про зміни розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки під впливом опіку на пізніх термінах опікової травми, які характеризувалися статистично значуще меншою кількістю вузькоцитоплазматичних лімфоцитів та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, а також більшою кількістю широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням та більшою кількістю лімфобластів.

Вперше виявлено взаємозв'язок між ендогенною інтоксикацією та клітинним складом білої пульпи селезінки. Експериментальна опікова травма шкіри у щурів викликає, характерну для опікової хвороби, ендогенну інтоксикацію, рівень якої коригується і нормалізується інфузією застосованих комбінованих гіперосмолярних розчинів HAES - LX 5% та референт-препарату лактопротеїну з сорбітолом.

Дослідження показало, що застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% у порівнянні з 0,9 % розчину NaCl у віддалених термінах статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: збільшення клітин у фазі S та G2+M. Використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, HAES-LX-5% позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки.

В цьому плані дисертаційне дослідження І.В.Булько має практичне значення. Виконане дослідження дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки на пізніх стадіях опікової травми за умов застосування внутрішньовенної інфузії нового препарату колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX-5%, та референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом, окреслює шляхи подальшого удосконалення підходів до профілактики та інтенсивної терапії при імунологічних порушеннях.

Таким чином, праця І.В.Булько має як теоретичне, так і практичне значення, її результати знаходять своє застосування у комбустіології. Проведені дослідження розширяють і поглиблюють знання про зміни структури селезінки на пізніх стадіях опікової травми, що визначає необхідність своєчасного застосування профілактичних та лікувальних заходів, спрямованих на запобігання ускладнень, які можуть виникати після термічного пошкодження.

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

Вступ викладений на 9 сторінках та містить усі складові, рекомендовані ДАК України, щодо оформлення дисертаційних робіт. Тут обґрунтовано актуальність дослідження, автором визначені мета та задачі

дослідження. Відповідно до встановлених вимог, сформульована наукова новизна одержаних результатів, відмічено їх практичне значення роботи, представлений особистий внесок здобувача.

Розділ перший "Огляд літератури" складається з чотирьох підрозділів, на основі вітчизняної та зарубіжної літератури достатньо повно характеризує сучасні уявлення про морфологічні, функціональні особливості селезінки та реакції імунної системи при дії екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження. Детально описані порушення імунних механізмів та морфологічних змін структури селезінки при дії різних екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження, та розглянуті шляхи їх корекції. Дисертантка обґрунтовує механізми розвитку патологічних змін органів при опіковій хворобі та необхідність застосування інфузійної терапії комбінованими колоїдно-гіперосмолярними розчинами при термічній травмі.

Огляд написаний логічно, грамотною літературною мовою і переконливо підводить до сформульованої дисертантом мети та задач дослідження. У дискусійній формі проаналізовані сучасні вітчизняні та зарубіжні літературні джерела.

У другому розділі "Загальна методика та основні методи дослідження" описано сучасні, адекватно підібрані морфологічні, лабораторні, біохімічні та статистичні методи дослідження. Автором дисертації охарактеризовано об'єкт та умови проведення досліджень, описано особливості методичного підходу. Детально описані методи дослідження.

Третій розділ "Морфологічний стан селезінки у щурів без опіку шкіри, яким вводили інфузійні розчини" складається з 3 підрозділів. Дисертантка визначила морфологічний стан селезінки щурів без опіку шкіри, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, також морфологічний стан селезінки інтактних тварин, яким вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом та структуру селезінки щурів, яким вводили 5 % розчин HAES-LX. Дисертантка приходить до висновку, що в усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl та розчину HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь - яких структурних змін селезінки. Розділ достатньо ілюстрований 15 рисунками.

Четвертий розділ "Морфологічні зміни селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри при застосуванні 0,9 % розчину NaCl" складається з 2 підрозділів. Розділ характеризує макро- та мікроскопічні особливості структури селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl та ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl. Представлений розподіл і особливості активації лімфоцитів білої пульпи селезінки можна вважати проявом реакції цих клітин у стадії токсемії опікової хвороби.

П'ятий розділ "Структурні зміни селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри та застосування лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%" складається з 4 підрозділів. Авторка відзначає, що після опіку шкіри та застосування лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5% проявляється стимуляційний вплив лактопротеїну на лімфоїдні вузлики у селезінці з 14-ої до 30-ої доби. Так, на 21 добу у периартеріолярних лімфоїдних піхвах виявляється гіперплазія В-лімфоцитів та плазмоцитів, що є морфологічною ознакою посилення гуморального імунітету. На 30 добу у лімфоїдних вузликах білої пульпи виявляли значно збільшені у розмірах периартеріолярні зони, які містили чисельні лімфоцити та гіпертрофовані макрофаги, що вказувало на збільшення структурної частки клітинної ланки імунітету. Отримані дані свідчать, що клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня ендогенної інтоксикації. Виявлена кореляційна взаємозалежність між показниками концентрації молекул середньої маси, лейкоцитарним індексом інтоксикації та показниками лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки щурів на пізніх стадіях опікової травми в умовах застосування інфузійної терапії NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%. Для ілюстрації приведено 16 рисунків та 3 таблиці.

Шостий розділ "Показники клітинного циклу селезінки у віддалений період після опіку шкіри у щурів при введенні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%" ілюстрований 6

таблицями та 9 рисунками. Булько І.В. показала, що застосування лактопротейну з сорбітолом та HAES-LX-5% статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: відбувається збільшення клітин у фазі S та G2+M ($p < 0.05$), що збільшує індекс проліферації, зменшення фрагментації ДНК.

Сьомий розділ "Аналіз і узагальнення результатів досліджень" являє собою логічний аналіз власних досліджень, із врахуванням вітчизняних та зарубіжних літературних джерел, що підсумовується висновками.

Результати дослідження викладені у 7 висновках, які достатньо обґрунтовані, виходять з мети й задач дослідження та логічно відображають основний зміст роботи.

Аналіз змісту дисертації показав її завершеність у цілому, високий методичний рівень дослідження, наукову новизну та практичну значимість отриманих результатів. Зауважень до структури та методики викладення розділів власних досліджень автора немає.

Автореферат повністю відбиває основні положення дисертації, за своєю структурою відповідає вимогам ДАК України, написаний доброю літературною українською мовою, достатньо аналізує та обговорює отримані результати.

5. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Результати роботи викладені у дисертації, авторефераті, наукових публікаціях необхідно і надалі використовувати в науковій та навчальній роботі вищих навчальних закладах медичного профілю, наукових лабораторій та в практичній роботі лікарів-комбустіологів, оскільки визначальною рисою роботи є її виражена прикладна спрямованість.

Особливістю даного дисертаційного дослідження є те, що воно може бути використане в клініці, оскільки застосування гіперосмолярних розчинів сприяє розгортанню адаптивних клітинних процесів в області диференціювання клітин і зниженню рівня деструктивних процесів в клітинах.

Наряду з цим, авторка провела кількісний аналіз клітинного циклу

клітин селезінки, що може бути використано комбустіологами, а також впроваджено в навчальний процес на кафедрах нормальної анатомії, оперативної хірургії та топографічної анатомії, загальної хірургії.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації.

У дисертації зустрічаються поодинокі невдалі вислови та стилістичні описки. Дисертація перевантажена ілюстраціями та детальним описанням гістологічних та електронно-мікроскопічних препаратів в третьому та четвертому розділах та деякими повторами в розділі "Аналіз і узагальнення результатів досліджень".

Вищенаведене та наявність невеликої кількості технічних друкарських помилок ніяким чином не змінюють наукової суті дослідження, не знижують його теоретичну та практичну значимість.

В порядку дискусії прошу відповісти на запитання:

1. Вами проведений ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки. Яким чином ви розрізняли "широкоцитоплазматичний лімфоцит з низькою активністю", "широкоцитоплазматичний лімфоцит з високою неспецифічною активністю", "вузькоцитоплазматичний лімфоцит"?

2. Ви застосували метод проточної ДНК-цитометрії для визначення вмісту ДНК в ядрах клітин селезінки при визначенні компенсаторно-приспосувальних змін селезінки після опіку шкіри. Чи можливе застосування цього ж методу в діагностиці процесів інших органів?

7. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Булько Ірини Віталіївни є самостійним завершеним науковим дослідженням, яке містить раніше не захищені наукові положення, викладені автором теоретичні узагальнення, які в сукупності вирішують конкретну наукову задачу щодо визначення морфологічних змін структури селезінки шурів у віддалені періоди після опікової травми шкіри та при застосуванні лактопротейну з сорбітолом або 5% HAES-LX, що має велике практичне значення у хірургічній практиці та має суттєве значення для морфології.

За обсягом проведеного дослідження, глибиною аналізу, новизною одержаних результатів, обґрунтованістю та достовірністю висновків і положень, дисертація **Булько Ірини Віталіївни «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»** цілком відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року) щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія.

Офіційний опонент –

завідувач кафедри анатомії людини
Національного медичного
університету ім. О.О. Богомольця,
Заслужений діяч науки і техніки України,
д.мед.н., професор



В.Г. Черкасов