

В І Д Г У К

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Слободяна Олександра Миколайовича на дисертаційну роботу **Булько Ірини Віталіївни «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»**, поданої до спеціалізованої вченої ради

Д 05.600.02 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія

1. Актуальність обраної теми дисертації

Аналіз наукової літератури свідчить, що у віддалений період опікової травми опіковий сепсис не є наслідком прямої дії мікроорганізмів, а пов'язаний зі змінами в імунній системі – від стану гіперзапалення до стану імунодефіциту.

Патогенез формування імунодепресії при тяжкій опіковій травмі складається з накопичення молекул середньої маси; накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів; посилення транслокації ендотоксинів і мікрофлори з кишки в кров, що призводить до збільшення в крові концентрації ЛПС грамнегативних мікроорганізмів і бактеріємії; порушення обміну нуклеїнових кислот в клітках імунної системи (диснуклеотидоз); порушення цитокінового статусу (істотне переважання прозапальних цитокінів над протизапальними цитокінами).

Актуальність поставлених завдань не викликає сумнівів, так як морфофункціональні зміни у селезінці відіграють значну роль у компенсаторно-приспосувальних реакціях усього організму. У етіопатогенезі опікової травми мають значення недостатність периферійного кровотоку, що є наслідком гемоконцентрації, плазморагії і ДВС-синдрому. Виникає необхідність розробки раціональних заходів лікування. Запровадження в останні роки широкого застосування в комбустіології інфузійно-трансфузійної терапії ставить нове завдання пошуку експериментальних моделей, які на новій науковій базі дозволять дослідити і порівняти ефективність комбінованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів.

Нині більшість досліджень присвячено вивченню імунної системи за умов стресу, інтоксикації та супутніх органічних захворювань, а морфологія селезінки

за термічних уражень залишається недостатньо дослідженою. Особливо мало досліджень присвячених вивченню ультрамікроскопічних змін у різні періоди опікової хвороби. Також майже відсутні дослідження фармакокорекції структурно-функціональних змін селезінки за термічних уражень.

Отже, все вищенаведене свідчить про те, що автором дисертації висвітлені актуальні питання сучасної медико-біологічної науки, які потребують свого вирішення.

2. Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизну, повноту їх викладу в опублікованих працях

Дисертантка детально проаналізувала практично всю доступну літературу по розглянутій проблемі, дала їй критичну оцінку та зробила логічні висновки, що визначило тему подальшого наукового дослідження.

Робота базується на достатньому кількісно та якісно репрезентативному досліджуваному матеріалі (200 білих статевозрілих щурах).

Наукові положення, висновки, сформульовані авторкою, обґрунтовані результатами комплексного дослідження змін структури селезінки. Висновки, в кількості семи, достатньо обґрунтовані та повністю виходять із суті роботи, мають високий рівень новизни. Сформульовані чітко, конкретно, відповідають меті та задачам дослідження.

Використання адекватних морфологічних: макроскопічного, мікроскопічного, електронно-мікроскопічного; лабораторних: визначення формули крові, МСМ за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом; проточної ДНК-цитометрії, сучасна комп'ютерна статистична обробка отриманих результатів надають праці науковій достовірності та обґрунтованості. Все це свідчить про системний підхід до проблеми та глибоке її осмислення. Викладений у власних дослідженнях матеріал відображає достовірність та обґрунтованість наукових положень, що виносяться на захист.

Достовірність наукових результатів підтверджується наявністю первинної наукової документації, журналів реєстрації показників. Застосовані автором методи дослідження сучасні, достатні та відповідають завданням дослідження. Засоби виміральної техніки, що використовувались за умов виконання

дисертаційної роботи, відповідали технічним вимогам, пройшли перевірку територіальним органом Держстандарту України. Отриманий експертний висновок свідчить про можливість їх використання за умов виконання дисертаційної роботи.

Представлені матеріали дисертації Булько Ірини Віталіївни є достовірними і методично виконані на високому рівні.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження

Дисертаційне дослідження має важливе теоретичне значення, доповнюючи знання з анатомії людини, дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки на пізніх стадіях опікової травми за умов застосування внутрішньовенної інфузії нового препарату колоїдногіперосмолярного розчину HAES-LX-5%, та референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом.

Новим та теоретично значущим є встановлення особливостей активації та розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки у відповідь на застосування як досліджуваного препарату колоїдно-гіперосмолярного розчину 5% HAES-LX, так і референтного препарату – колоїдно-гіперосмолярного розчину лактопротеїну з сорбітолом, що є морфологічним проявом їх імуномодельючої дії.

Одержані результати дослідження мають практичне значення для клінічної анатомії, комбустіології як анатомічна основа для розробки і вдосконалення лікування термічних уражень. Результати даного дослідження є теоретичною основою для наступних експериментальних досліджень у клінічній анатомії, а також можуть бути використані при виданні монографій, навчальних посібників і підручників. На отриманих нових морфологічних даних та результатах статистичного аналізу морфометричних показників структури селезінки можуть ґрунтуватися нові методи корекції опікової травми.

Отже, наукова праця І.В. Булько має як теоретичне, так і практичне значення, її результати знаходять своє застосування у практичній роботі лікарів і в навчальному процесі на кафедрах нормальної анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії.

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

Дисертація та її автореферат побудовані за загально прийнятим планом, відповідно до основних вимог МОН України.

Вступ викладений на 9 сторінках, містить всі необхідні компоненти.

Розділ 1 - "Огляд літератури" складається з чотирьох підрозділів, викладений на 20 сторінках. В огляді літератури І.В. Булько на основі вітчизняної та зарубіжної літератури достатньо повно характеризує сучасні погляди на морфологічні, функціональні особливості селезінки та реакції імунної системи при дії екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження. В огляді добре висвітлені питання порушень імунних механізмів та морфологічні зміни структури селезінки при дії різних факторів, що викликають пошкодження. Деталізовані механізми розвитку патологічних змін органів за опіковою хворобою. Добре висвітлено питання застосування інфузійної терапії комбінованими колоїдно-гіперосмолярними розчинами за термічною травмою.

Розділ містить багато нового матеріалу, необхідний в роботі.

Розділ 2 "Матеріал і методи дослідження" написаний на 8 сторінках.

Авторка застосувала морфологічні: макроскопічний – для візуального вивчення стану, визначення маси та об'єму селезінки у віддалений період після опіку шкіри; мікроскопічний – для вивчення мікроструктури складових структурних елементів селезінки у віддалений період після опіку шкіри; електронно-мікроскопічний – для проведення ультраструктурного морфометричного аналізу популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після опіку шкіри та в умовах комплексного застосування лактопротеїну з сорбітолом або 5% НАЕС-LX; лабораторні: визначення формули крові, МСМ за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛІІ) – для кількісної оцінки ендогенної інтоксикації; вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначався методом проточної ДНК-цитометрії з метою визначення особливостей клітинного циклу

досліджених груп; 3) статистичний – для оцінки вірогідності відмін між групами порівняння з застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів і визначення ступеня взаємозв'язків між показниками розподілу лімфоцитів в білій пульпі селезінки та ендогенної інтоксикації.

Результати власних досліджень відображені автором у чотирьох розділах.

Розділ 3 " МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СЕЛЕЗІНКИ У ЩУРІВ БЕЗ ОПІКУ ШКІРИ, ЯКИМ ВВОДИЛИ ІНФУЗІЙНІ РОЗЧИНИ" написаний детально. Дисертантка показала, що в усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl та розчину 5% HAES-LX у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь-яких структурних змін селезінки. Загалом реакція пульпи селезінки інтактних щурів на введення в організм кровозамінника 5% HAES-LX на 30-ту добу характеризується незначним повнокрів'ям судин кровоносного мікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи селезінки. Не виявили активації Т- та В- залежних ділянок у лімфоїдних фолікулах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також посилення фагоцитарної активності макрофагів, яке було виявлено у щурів без опіку шкіри, яким перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом.

Розділ 4 "МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl" містить оригінальний матеріал. І.В.Булько виявила, що у селезінці щурів при опіковій травмі без корекції на 14 добу наявне повнокров'я судин червоної та білої пульпи. У червоній пульпі звужені селезінкові тяжі, які містили менше лімфоцитів, макрофагів та плазмоцитів. Однак в них виявляли еозинофільні лейкоцити та більшу чисельність мегакаріоцитів, що є морфологічною ознакою активації тромбоцитопоезу. Зменшена кількість лімфоцитів та макрофагів у періартеріальних ділянках, та в періартеріолярних лімфоїдних піхвах. Встановлені нами зміни можна трактувати як зниження участі макрофагів у регуляції імунного відповіді. На 21 добу також виявляли ознаки посиленого тромбоцитопоезу. На цей термін і на 30 добу значно розширені гермінативні центри лімфоїдних

вузликів, в яких чимало макрофагів з фагоцитованими фрагментами лімфоцитів. Розширені маргінальні зони, однак вони містили незначну кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів, що може свідчити про активацію транспорту клітин в червону пульпу.

Розділ 5 "СТРУКТУРНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ТА КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБИТОЛОМ ТА 5 % НАЕС-LX" написаний ґрунтовно. Авторка встановила, що у щурів, яким після опіку шкіри перших 7 днів експерименту вводили в вену 5% розчин НАЕС-LX на 21 добу, в частині лімфоїдних вузликів селезінки розширені маргінальні ділянки містили повнокровні маргінальні судини, однак кількість лімфоцитів плазмоцитів та макрофагів була незначною, що на тлі розширених мантійних ділянок, які містили велику кількість Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів та плазмоцитів, вказує на посилену міграцію цих клітин в червону пульпу селезінки. Характеризуючи кореляційні зв'язки між розподілом лімфоцитів у білій пульпі селезінки та показниками ендогенної інтоксикації слід відмітити, що вміст лімфоцитів у білій пульпі селезінки статистично значуще залежав від рівня ендогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки виявили між об'ємними частками широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю та з фагоцитарною активністю, з плазмодитарним диференціюванням та показниками лейкоцитарного індекса інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси. Між об'ємними частками вузькоцитоплазматичних лімфоцитів, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю та показниками лейкоцитарного індекса інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки. Клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня ендогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки спостерігались між об'ємними частками широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю,

широкоцитоплазматичних лімфоцитів з фагоцитарною активністю. Розділ написаний на 30 сторінках, ілюстрований 16 малюнками та 3 таблицями.

Розділ 6 "ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ СЕЛЕЗІНКИ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ У ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННЯ 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl, ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ ТА РОЗЧИНУ HAES-LX-5 %" встановлює, що використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, 5% розчину HAES-LX позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки на фоні опіку шкіри.

Достовірно показано, що внутрішньовенна інфузія щурам без опіку шкіри протягом 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% HAES-LX не змінює показники клітинного циклу селезінки (G0G1-фаза, S- фаза і G2+M-фаза) і фрагментації ДНК (інтервал SUB-G0G1) через, 14, 21 та 30 діб спостереження, що вказує на наявність певного балансу між процесами синтезу ядерної ДНК та апоптозу.

Термічне ураження шкіри викликає збільшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі синтезу ДНК (S-фазі клітинного циклу) та показників фрагментації ДНК (активація апоптозу), що може засвідчувати наявність явищ активації репаративних процесів у селезінці.

Застосування лактопротеїну з сорбітолом та 5% HAES-LX 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.

Розділ 7 "Аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень"

Обговорення отриманих результатів проведено старанно та об'єктивно. Дисертант вміло узагальнює результати дослідження, дає їм критичну оцінку.

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.

Матеріал автореферату розміщений згідно вимог, що рекомендовані ДАК МОН України. В авторефераті відображені всі розділи дисертації.

5. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці

У результаті проведених досліджень отримані автором нові дані доповнюють існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки за термічною травмою шкіри та корекції післяопікового стану, окреслюють шляхи подальшого удосконалення підходів до профілактики та інтенсивної терапії. Застосування лактопротеїну з сорбітолом і нового кровозамінника HAES - LX 5% за умов термічної травми шкіри можуть використовуватись в комбустіології.

Розробки дисертанта можуть знайти застосування в науковій роботі морфологічних та клінічних кафедр вищих навчальних закладів, наукових лабораторій, а також можуть використовуватись як у лекційних курсах так і практичних заняттях при викладанні студентам відповідних розділів анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії медичних вузів.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації

Оцінюючи в цілому роботу позитивно, відмічено деякі побажання.

У дисертаційній роботі виявляються описки, невдалі стилістичні вирази (стор. 49, стор. 106, стор. 116, стор. 135 тощо), на що вказано дисертанту в особистій бесіді. Зауваження не мають істотного значення та не впливають на цінність проведеного дослідження.

Після ознайомлення з дисертаційною роботою в плані дискусії хотілося б почути відповідь на наступні запитання:

1. Ви дослідили структуру селезінки за умов опікової травми шкіри. Які Ви вбачаєте механізми імунних порушень за умов опіку шкіри?
2. Чи не є апоптоз проявом компенсаторно-приспосувальних та адаптаційних змін клітин селезінки після опікової травми шкіри?

7. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертація Булько І.В. «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті» є закінченою науковою роботою, яка містить уперше встановлені результати, що мають теоретичне та практичне значення для клінічної анатомії і дають змогу вирішити важливе наукове завдання щодо визначення особливостей структури селезінки після опікової травми. Наукові положення та висновки дисертації є новими, достовірність їх підтверджена достатнім фактичним матеріалом, що одержаний за допомогою сучасних та адекватних поставленим завданням методів дослідження. Основні положення дисертації віддзеркалені в публікаціях у фахових виданнях, їх кількість відповідає вимогам Департаменту атестації кадрів Міністерства освіти і науки України.

За актуальністю теми, об'ємом проведеного дослідження, глибиною його аналізу, новизною одержаних результатів, обґрунтованістю та достовірністю висновків і положень дисертаційна робота Булько Ірини Віталіївни повністю відповідає вимогам п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою КМ України № 567 від 24 липня 2013 р. (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 присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія.

ОФІЦІЙНИЙ ОПОНЕНТ:

Завідувач кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, доктор медичних наук, професор

О.М. Слободян

Підпис професора О.М. Слободяна засвідчую:
Вчений секретар Вищого державного навчального закладу України
«Буковинський державний медичний університет»

І.І. Павлуник

