

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертацію Акімової Віоріки Миколаївни
«ІМУННІ МЕХАНІЗМИ В ПАТОГЕНЕЗІ
ЗАПАЛЕННЯ ОРГАНІВ ЧЕРЕВНОЇ ПОРОЖНИНИ»,
яка подана у спеціалізовану вчену раду Д 55.051.05 Сумського
державного університету МОН України
на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за
спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія**

Актуальність теми дисертаційної роботи. Запальний процес є провідною патогенетичною ланкою багатьох захворювань, а його локалізація в тому чи іншому органі визначає специфіку хвороби і її нозологічну форму. Клінічна оцінка кожного конкретного випадку запального процесу та обрання лікувальної тактики повинна ґрунтуватися на аналізі багатьох факторів: причини виникнення запального процесу, його локалізації, інтенсивності, стану організму. Незважаючи на всебічне і глибоке вивчення запалення значущість запальних захворювань серед інших патологій продовжує зростати. Гострі запальні процеси часто набувають затяжного і ускладненого перебігу, зростає кількість хронічних захворювань. Серед гострих запальних захворювань органів черевної порожнини, найпоширенішими є жовчнокам'яна хвороба та гострий апендицит, при діагностиці яких часто виникає необхідність диференціації з хронічними запальними процесами, зокрема з абдомінальним туберкульозом.

Туберкульоз - одна з основних десяти причин смерті в усьому світі. У 2017 р. 10 млн людей захворіли на туберкульоз і приблизно 1,3 млн від нього померли. Крім того, близько чверті населення світу має латентну туберкульозну інфекцію. Позалегенева форма наявна приблизно у 20% хворих на туберкульоз, а абдомінальний туберкульоз становить близько 10% позалегенового туберкульозу. Діагностика абдомінального туберкульозу залишається великою проблемою навіть для досвідчених лікарів. Досить часто абдомінальний туберкульоз виявляють лише при хірургічному втручанні з приводу ургентної абдомінальної патології, тому пошук маркерів диференційної діагностики гострого і хронічного запалення органів черевної порожнини має важливий практичний інтерес.

Незважаючи на всебічне дослідження ролі імунної системи у різних етапах запалення, патогенетичні механізми імунних реакцій, їх регуляція в умовах розвитку запальних захворювань вивчені недостатньо. Тому, дисертаційна робота Акімової Віоріки Миколаївни, спрямована на розкриття

механізмів розвитку запалення органів черевної порожнини та їх особливостей залежно від форми запалення, етіологічного чинника, локалізації та стадії гнійно-запального процесу є актуальним та своєчасним дослідженням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри клінічної лабораторної діагностики та кафедри хірургії та ендоскопії факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького "Розробка диференційної тактики лікування і профілактики моно- і поліорганної недостатності в ургентній абдомінальній хірургії" (№ держреєстрації - 0110U002149).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено порівняльну оцінку імунної дизрегуляції у хворих на гострі та хронічні запальні абдомінальні захворювання, у тому числі при різних варіантах органних патоморфологічних змін і дана комплексна оцінка функціонального стану усіх ланок імунітету, співвідношення імунної та метаболічної компоненти у синдромі ендогенної інтоксикації, визначено їх взаємозв'язок.

Вперше показано, що зміни цитокинового та імунного статусу залежать від типу та прогресування запального процесу в черевній порожнині. Встановлено, що як гострі запальні захворювання органів черевної порожнини, так і абдомінальний туберкульоз, супроводжуються активацією гуморальної та клітинної ланок імунітету і розвитком Т-клітинного імунодефіциту. Проте для гострого апендициту характерна гемограма нейтрофільного типу, зростання вмісту IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , у той час як при абдомінальному туберкульозі спостерігається лімфоцитарний тип гемограми та істотне підвищення вмісту IL-2 при одночасному підвищенні IL-10 та TGF β 1, що є підставою для диференційної діагностики даних захворювань.

Встановлено підвищення експресії мембранних активаційних антигенів CD25, CD95, CD23 на лімфоцитах крові та виявлені відмінності у їх співвідношенні при різних формах запалення органів черевної порожнини.

Уперше виявлено наявність кореляційних зв'язків різної сили й спрямування між рівнями інтерлейкінів та показниками клітинного і гуморального імунітету та їх залежність від форми запалення і показано зростання їх кількості та сили за умов абдомінального туберкульозу та деструктивних форм гострого запалення порівняно з гострим катаральним апендицитом та гострим мезаденітом.

Новизна дисертаційного дослідження підтверджується патентами на корисну модель, виданим Державним департаментом інтелектуальної власності (№ U53424 від 11.10.2010 р. та № U201711297 від 25.04.2018 р).

Теоретичне значення результатів дослідження. Отримані результати суттєво поглиблюють існуючі знання про патогенез гострих запальних захворювань органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу, як прикладу хронічного специфічного запалення, а також уточнюють характер і специфіку порушень гуморального, клітинного імунітету та цитокінового спектру, притаманних цим видам запальних процесів, що полегшує їх патогенетично обґрунтовану диференційну діагностику та імунну корекцію.

Матеріали дисертації впроваджені в навчальний процес та використовуються в наукових дослідженнях на кафедрах патофізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського; на кафедрі фізіології імені Я.Д. Кіршенבלата Буковинського державного медичного університету, на кафедрі хірургії та ендоскопії ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Впроваджено у діагностичний процес хірургічного відділення Комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги м. Львова; гінекологічному відділенні Комунального закладу охорони здоров'я «Львівська обласна лікарня поза легеневого туберкульозу».

Практичне значення результатів дослідження. Визначені в роботі показники популяційного складу лейкоцитів периферичної крові, функціональні показники циркулюючих нейтрофілів та лімфоцитів і сироваткові рівні цитокінів, які характеризують стан імунної системи та тип неспецифічної адаптаційної реакції організму, можуть бути рекомендовані як додаткові маркери для персоналізації прогнозування перебігу запалення органів черевної порожнини та ефективності його лікування.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Обґрунтованість наукових положень, наведених у дисертації Акімової В.М., полягає в правильній методологічній побудові структури дисертації, метою якої було з'ясувати роль імунних реакцій у патогенезі різних форм гострих неспецифічних запальних захворювань органів черевної порожнини та хронічного специфічного процесу (абдомінальний туберкульоз) для проведення патогенетично обґрунтованої диференційної діагностики. Використані у роботі методи (світлова мікроскопія, імуноферментний, непрямий імунофлюорисцентний метод визначення популяційного складу лімфоцитів периферичної крові, люмінесцентна мікроскопія, імунотурбідиметричний, ферментативний, колориметричний) відповідають меті і завданням дослідження. Проаналізовано достатню кількість клінічного

матеріалу - у дослідженні взяли участь 226 хворих. Отримані в цифровому значенні результати опрацьовано сучасними методами статистики.

Проведений аналіз дисертації дозволяє зробити висновок, що робота методологічно правильно побудована, ґрунтується на дослідженнях достатньої кількості пацієнтів, що дозволяє зробити статистично достовірні і коректні висновки. Останні цілком відповідають поставленій автором меті та завданням дослідження. Таким чином, наукові положення і висновки, що сформульовані в дисертації, можна вважати обґрунтованими.

Структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 429 сторінках комп'ютерного тексту, містить анотацію, вступ, огляд літератури, розділ з описом матеріалів і методів дослідження, 7 розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел (всього 486 джерел, із них 234 кирилицею та 252 латиницею). Робота ілюстрована 89 таблицями, 72 рисунками.

У анотації українською і англійською мовами наведений стислий зміст роботи, ключові слова та перелік публікацій дисертантки. У вступі витримані всі необхідні пункти.

Розділ 1 «Огляд літератури» складається із 3 підрозділів. У першому «Гострий абдомінальний синдром: визначення поняття, основні нозології» описані найчастіші причини гострого абдомінального болю, диференційна діагностика хірургічних захворювань органів черевної порожнини та їх види.

Другий «Сучасні уявлення про імунні аспекти патогенезу гострих запальних захворювань органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу» присвячений клітинам імунної системи, як основним чинникам, що забезпечують імунну реактивність, гуморальним медіаторам імунної системи, а також особливостям імунної відповіді в патогенезі гострого запалення органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу.

У третьому «Патогенетична роль ендогенної інтоксикації в перебігу запалення» підкреслюється важливе значення цитокінів у розвитку імунної відповіді.

Огляд літератури закінчується узагальненням із 4 висновків, що аргументують вибір теми дисертаційного дослідження, формулювання мети і завдань.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» наводить характеристику обстежених хворих, описує як здійснювався підбір пацієнтів для дослідження. У розділі дана схема вибору нозологій для дослідження абдомінального запалення, розрахунки гематологічних індексів, докладно і грамотно описані всі використані методики.

Розділ 3 «Результати досліджень» складається із 7 підрозділів. У першому підрозділі досліджено частоту виявлення різних типів загальних неспецифічних адаптаційних реакцій організму і оцінено неспецифічну резистентність організму при різних формах абдомінального запалення. Встановлено вірогідну різницю між показниками лейкограми в залежності від типу запалення та від патоморфологічної форми. Показано, що розрахунок інтегральних гематологічних індексів може бути застосований для скринінгової оцінки функціонального стану імунітету при запаленні органів черевної порожнини. Гострі неускладнені запальні абдомінальні захворювання перебігають в основному на тлі загальних неспецифічних адаптаційних реакцій еустресу (реакції спокійної та підвищеної активації) та реакції орієнтування. При хронічному запаленні у черевній порожнині (абдомінальний туберкульоз) переважали загальні неспецифічні адаптаційні реакції спокійної та підвищеної активації. Другий підрозділ присвячений дослідженню популяційного складу лімфоцитів периферичної крові при різних формах абдомінального запалення. Доведено, що при різних патоморфологічних формах гострого апендициту та при абдомінальному туберкульозі спостерігається підвищення експресії CD23 на мембрані лімфоцитів периферичної крові, що є свідченням високої активності запального процесу та розвитку гіперчутливості I типу. Автор стверджує, що в практичній лікарській діяльності при дослідженні активаційних процесів в імунній системі найбільш ефективно застосовувати поєднано визначення експресії диференціювальних та функціональних активаційних маркерів лімфоцитів та визначати їх співвідношення. У третьому підрозділі дана характеристика цитокіновому профілю сироватки крові у хворих на ургентну абдомінальну запальну патологію, досліджені прозапальні (IL-1 β , TNF- α , IL-2, IL-8) та протизапальними (TGF- β 1, IL-10, IL-4) цитокіни. Було встановлено, що при гострих неспецифічних абдомінальних запальних захворюваннях переважає активація Th1 (Т-хелпери, підтип-1) над активацією Th2 (Т-хелпери, підтип-2), Th17 (Т-хелпери, підтип-17) та Treg (Т-супресори), що підтверджується значно більшим зростанням вмісту IL-2 над збільшенням вмісту IL-10 та IL-4. При АТ спостерігали істотне підвищення вмісту IL-2 з одночасним підвищенням рівнів IL-10 та трансформуючого ростового фактору бета (TGF β 1), що є підставою для диференційної діагностики даних захворюваннях. Четвертий підрозділ присвячено аналізу зміни вмісту у сироватці крові α 2-макроглобуліну, що відіграє важливу роль у регуляції апоптозу. У п'ятому підрозділі встановлено, що нейтрофільні гранулоцити периферичної крові за умов гострого запалення мають знижену поглинальну функцію з одночасною значною активацією окисно-відновних процесів та

збільшенням кількості лізосомальних гранул із катіонними білками у клітинах. В умовах хронічного специфічного запалення зниження поглинальної функції нейтрофілів супроводжується зростанням окисно-відновної активності, а вміст катіонних лізосомальних білків не відрізняється від показника у здорових осіб. У шостому підрозділі доведено активацію NO-синтази і збільшення рівня стабільних метаболітів NO, що найбільш виражені при ускладнених та деструктивних формах запалення ОЧП. Отримані результати свідчать про те, що своєчасна оцінка досліджень системи оксиду азоту дасть змогу виявити генералізацію гнійно-септичного процесу та наростання ендотоксикозу, який супроводжується активацією неокисного, шляху продукції NO. У сьомому підрозділі за допомогою дисперсійного та факторного аналізу проведена оцінка функціонального стану імунної системи при гострих захворюваннях органів черевної порожнини та абдомінальному туберкульозі.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» здобувачка аналізує стереотипні реакції імунної системи та особливості механізмів її участі у патогенезі різних форм гострих неспецифічних запальних захворювань органів черевної порожнини та хронічного специфічного процесу (абдомінальний туберкульоз) і підкреслює важливість цих даних для проведення патогенетично обгрупованої диференційної діагностики.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Усі наукові положення, висновки і рекомендації, що сформульовані у дисертації повною мірою відображені у 57 наукових працях, у тому числі 33 статтях, 23 з яких у журналах, рекомендованих ДАК МОН України, 6 – у закордонних фахових виданнях, які обліковуються наукометричними базами даних, 22 роботи у збірках матеріалів конференцій; 2 патенти на корисну модель.

Зауваження до дисертації щодо її змісту та оформлення.

У процесі ознайомлення з роботою виникли такі зауваження:

1. Огляд літератури містить багато загальновідомої інформації. Так, у першому підрозділі наведені дані про причини, ускладнення, підходи у діагностиці гострих і хронічних запальних процесів черевної порожнини, на мою думку, цей підрозділ у такому вигляді не є доцільним для докторської дисертації.
2. У роботі зустрічається некоректне використання патофізіологічних термінів.
3. У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» дисертантка докладно і всебічно аналізує власні результати, пояснює

можливі механізми змін, що виникають. Проте інформації про порівняння отриманих результатів з результатами інших дослідників обмаль.

4. Є помилки у оформленні списку використаних джерел. Понад третини посилань застарілі.

ПИТАННЯ:

1. При виконанні дослідження проведено лабораторне обстеження пацієнтів з використанням великої кількості методик, біля 20, на основі яких потім розраховувались різні індекси і коефіцієнти. Яку кількість крові забирали у хворих, щоб забезпечити таке лабораторне дослідження? Чи це був одномоментний забір крові, чи для різних видів дослідження забір здійснювався різними способами?
2. Чим Ви керувалися при виборі біохімічних маркерів при дослідженні механізмів запалення? Для чого Ви визначали індекс інгібування ($\alpha 1$ -АТ+ $\alpha 2$ -МГ) та коефіцієнт співвідношення $\alpha 2$ -МГ/ $\alpha 1$ -АТ? Яка їх діагностична цінність?
3. Чому для дослідження був обраний прокальцитонін, яка його роль у патогенезі абдомінального запалення?
4. Які імунні механізми, їх спільні та відмінні ланки, Ви окреслили б у патогенезі різних форм запалення органів черевної порожнини?

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.

Визначені в роботі показники популяційного складу лейкоцитів периферичної крові, функціональні показники циркулюючих нейтрофілів та лімфоцитів і сироваткові рівні цитокінів, які характеризують стан імунної системи та тип неспецифічної адаптаційної реакції організму, можуть бути рекомендовані як додаткові маркери для персоналізації прогнозування перебігу запалення ОЧП та ефективності його лікування.

Результати дослідження заслуговують на увагу патофізіологів, хірургів, гастроентерологів та лікарів загальної практики. Визначені в роботі показники популяційного складу лейкоцитів периферичної крові, функціональні показники циркулюючих нейтрофілів та лімфоцитів і сироваткові рівні цитокінів, можуть бути рекомендовані як додаткові маркери для персоналізації прогнозування перебігу запалення органів черевної порожнини та ефективності його лікування.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Акімової Віоріки Миколаївни «Імунні механізми в патогенезі запалення органів черевної порожнини», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія відповідає паспорту спеціальності, затвердженому постановою президії ВАК України від 11.09.2002 р. № 14-09/8 за пунктами 2.2, 2.3, 2.5, 2.6., є самостійною завершеною науково-дослідною працею, в якій запропоновано новий науковий напрямок щодо з'ясування механізмів розвитку гострих запальних захворювань органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу. За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним і практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень дисертація відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015, №1159 від 30.12.2015 і №567 від 27.07.2016), а її авторка Акімова Віоріка Миколаївна заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент –
професор кафедри фізіології і патофізіології
з курсом медичної біології
Сумського державного університету,
доктор біологічних наук, професор

В.Ю. Гарбузова

