

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента Савицького Івана Володимировича  
професора, доктора медичних наук, професора кафедри загальної та  
клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського  
національного медичного університету МОЗ України на дисертаційну роботу  
Акімової Віоріки Миколаївни «Імунні механізми в патогенезі запалення  
органів черевної порожнини», представлену на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук  
до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Вищому державному  
навчальному закладі України «Сумський державний університет» МОН  
України  
за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія**

### **1. Актуальність теми.**

Відомо, що абдомінальний біль є найчастішою причиною звернення до лікувального закладу. Відомо, що в основі перебігу гострих та хронічних запальних захворювань ОЧП лежить локальна і системна запальна реакція імунної системи. Первинне виникнення клінічних проявів патологічного процесу пов'язують із активацією її основних ланок і розвитком запалення, а рецидивування та прогресування патології - з різними розладами в імунній системі. Незважаючи на всебічне вивчення реакцій імунної системи при запаленні, патогенетичні механізми імунних реакцій, їх регуляція в умовах розвитку запальних захворювань вивчені недостатньо. Тому, розкриття механізмів розвитку запалення органів черевної порожнини та їх особливостей залежно від форми запалення, етіологічного чинника, локалізації та стадії гнійно-запального процесу є актуальною медико-біологічною проблемою.

Також зазначається, що все частіше гострі запальні процеси набувають затяжного і ускладненого перебігу; зростає кількість первинно та вторинно хронічних захворювань. У зв'язку з цим вивчення молекулярних та клітинних механізмів запалення залишається актуальною науковою проблемою.

Таким чином дисертаційна робота Акімової Віоріки Миколаївни «Імунні механізми в патогенезі запалення органів черевної порожнини» є актуальною та відповідає сучасним потребам медичної науки та практики.

### **2. Зв'язок теми дисертації з плановими науковими дослідженнями та науковими програмами.**

Дослідження здійснено в межах виконання 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" номер держреєстрації - 0110U002149, шифр теми ІН.2100.0002. Автору належить дослідження особливостей функціонування імунної системи за умов запалення та патогенезу цитокінової дизрегуляції при гострих та хронічних захворюваннях ОЧП.

### **3. Новизна дослідження та одержаних результатів.**

На підставі комплексної оцінки показників функціональної активності неспецифічної ланки імунітету, специфічного клітинного, гуморального імунітету, цитокінового статусу, особливостей реалізації запрограмованої загибелі лімфоцитів, ендогенної інтоксикації дисертантом вперше проведено порівняльну оцінку імунної дизрегуляції у хворих на гострі та хронічні запальні абдомінальні захворювання, у тому числі при різних варіантах органних патоморфологічних змін. Вперше дана комплексна оцінка функціонального стану усіх ланок імунітету і співвідношення імунної та метаболічної компоненти у синдромі ендогенної інтоксикації, визначено їх взаємозв'язок. Встановлено активність NO-синтази та вміст її метаболітів за умов запалення ОЧП при різних патоморфологічних формах та АТ. Вперше показано, що зміни цитокінового та імунного статусу залежать від типу та прогресування запального процесу в черевній порожнині. Встановлено, що як гострі запальні захворювання ОЧП, так і АТ, супроводжуються активацією гуморальної та клітинної ланок імунітету і розвитком Т-клітинного імунодефіциту. Відмінності встановлені на цитокіновому рівні регуляції. При гострому апендициті характерна гемограма нейтрофільного типу, зростання вмісту ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, TNF- $\alpha$ , у той час як при АТ спостерігається лімфоцитарний тип гемограми та істотне підвищення вмісту ІЛ-2 при одночасному підвищенні ІЛ-10 та TGF $\beta$ 1, що є підставою для диференційної діагностики даних патологічних станів. Встановлено підвищення експресії мембранних активаційних антигенів CD25, CD95, CD23 на лімфоцитах крові та виявлені відмінності у їх співвідношенні при різних формах запалення ОЧП. Доведено, що при гострих запальних процесах ОЧП, які перебігають без ускладнень, переважають процеси активації апоптозу над проліферацією, що підтверджено зниженням співвідношення експресії мембранних маркерів активації CD25/CD95. Ускладнені форми запалення (гнійно-септичним, деструктивним процесом) супроводжується більш вираженим зниженням показника CD25/CD95 порівняно із неускладненими, у той час як при АТ співвідношення не відрізняється від контролю. Розширено уявлення про особливості цитокінової регуляції апоптозу лімфоцитів крові, що дає можливість поглибити знання про розвиток запального процесу з позицій типового патофізіологічного процесу. Встановлено, сильний кореляційний зв'язок між експресією CD95 на лімфоцитах периферичної крові та концентрації ІЛ-2 та



TNF- $\alpha$  в сироватці крові, які на системному рівні є регуляторами процесу апоптозу. Автором вперше показано, що в усіх досліджуваних групах хворих відносна кількість CD23+лімфоцитів у крові була вищою від контролю більш, ніж утричі, а співвідношення CD19+/CD23+ було зниженим і найнижче значення спостерігалося при АТ. Підтверджено, що посилення експресії CD23 на мембрані лімфоцитів периферичної крові є свідченням розвитку гіперчутливості I типу та високої активності запального процесу. Доведена ефективність дослідження активаційних процесів в імунній системі із одночасним визначенням експресії диференціовальних та функціональних активаційних маркерів лімфоцитів та їх співвідношення. Також вперше 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. За допомогою факторного аналізу показників виявлено фактори, які визначають спрямованість імунозапальної реакції та регуляторні механізми, їх взаємозв'язки за умов гострого та хронічного запалення ОЧП. Отримані дані доповнили теоретичні уявлення про стан цитокінових регуляторних механізмів у формуванні адаптаційно-компенсаторних реакцій імунної системи при розвитку гострого запалення ОЧП та абдомінального туберкульозу.

#### **4. Теоретичне та практичне значення роботи.**

Отримані результати суттєво поглиблюють існуючі знання про патогенез гострих запальних захворювань ОЧП та АТ, 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. Новизна та пріоритетність дисертаційного дослідження підтверджується деклараційними патентами на корисну модель, виданим Державним департаментом інтелектуальної власності: № u 53424 від 11 жовтня 2010 року та патентом № u 2017 11297 від 25.04.2018.

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.

**5. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**



Мета дослідження - з'ясувати роль імунних реакцій у патогенезі різних форм гострих неспецифічних запальних захворювань ОЧП та хронічного специфічного процесу (абдомінальний туберкульоз) для проведення патогенетично обґрунтованої диференційної діагностики.

Завдання дослідження цілком відповідають поставленій меті. Побудова та організація роботи логічні та послідовні. Для досягнення мети було проведене лабораторне обстеження 226 хворих, які надійшли до комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги (КМКЛШМД) м. Львова з підозрою на гостру абдомінальну патологію, після завершення клініко-інструментального обстеження та встановлення діагнозу перед початком лікування.

Для вивчення особливостей імунної реактивності за умов гострого неспецифічного запалення ОЧП було обстежено групу хворих (чоловіки та жінки) на гострий мезаденіт (ГМ) (23 особи, середній вік  $32,1 \pm 1,56$  років), гострий апендицит (ГА, 93 особи, середній вік  $36,11 \pm 2,48$  років) та гострий калькульозний холецистит (ГКХ) (50 осіб, середній вік  $48 \pm 2,4$  років).

На підставі патоморфологічних заключень після проведених апендектомій було сформовано групи хворих з різними формами запального процесу: катаральною (група ГКА, 21 осіб), флегмонозною (група ГФА, 41 особа) та гангренозною (група ГГА, 16 осіб) формами ГА.

Було також виділено для обстеження групу хворих на ГКХ із гнійно-септичними ускладненнями (холангіт, місцевий перитоніт) (група ГКХ-ГСУ, 60 осіб). Гострий апендицит може перебігати з формуванням апендикулярного інфільтрату (гнійно-запальне ускладнення) (ГА-АІ, 15 осіб).

З метою вивчення імунної реактивності за умов специфічного запального процесу було обстежено 60 хворих (середній вік  $36,3 \pm 2,5$  років) на абдомінальний туберкульоз (АТ) з гістологічно підтвердженим діагнозом. Хворі на АТ – пацієнти Львівського регіонального фтизіо-пульмонологічного центру та Львівської обласної лікарні позалегенових форм туберкульозу.

Контрольну групу склали 36 практично здорових осіб віком 25-45 років.

Всім обстеженим проводили забір венозної крові до проведення лікування. Для виконання поставлених завдань використано наступні методи: світлової мікроскопії (для підрахунку показників гемограми, функціональної та метаболічної активності нейтрофілів); імуноферментний (визначення концентрації в сироватці крові інтерлейкінів – 1 $\beta$ , 2, 4, 6, 8, 10, 17, фактора некрозу пухлин- $\alpha$ , розчинного рецептора I типу до фактора некрозу пухлин, трансформуючого фактора росту  $\beta$ 1, імуноглобулінів А, G, M); непрямий імунофлюорисцентний метод визначення популяційного складу лімфоцитів периферичної крові; люмінесцентної мікроскопії (для підрахунку популяційного складу лімфоцитів); метод преципітації в поліетиленгліколі-6000 для визначення



циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові; імунотурбідиметричний метод (визначення СРП,  $\alpha 2$ -макроглобуліну,  $\alpha 1$ -антитрипсину); ферментативний метод (визначення активності NO синтази), колориметричний метод (визначення біохімічних показників інтоксикації),

Отриманий цифровий матеріал був оброблений методом варіаційної статистики. Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Кожен показник тестували на нормальний розподіл за допомогою критерію Шапіро-Вілсона. У залежності від умов експерименту та розподілу даних відмінності між групами оцінювали за допомогою t критерію Стюдента чи Манна-Уїтні. Зміни вважали вірогідними при  $p < 0,05$ . У рисунках та таблицях основної частини дисертації рівень значимості вказували тільки для вірогідних результатів. Для встановлення взаємозв'язку між змінними вираховували коефіцієнти кореляції у відповідності до нормального закону розподілу – коефіцієнт Пірсона, вважаючи, що при  $r < 0,25$  - взаємозв'язок слабкий;  $0,75 > r > 0,25$  - середня сила взаємозв'язку;  $r > 0,75$  - сильний взаємозв'язок. Додатне значення коефіцієнта свідчить про пряму залежність між величинами, від'ємне – про обернену (Мінцер О.П., 2000). Всі отримані результати були оброблені методом варіаційної статистики з використанням дисперсійного аналізу ANOVA та факторного аналізу з допомогою програми STATISTICA 6 (Statsoft, USA).

#### **6. Структура та обсяг дисертації**

Дисертація Акімової В.М. побудована традиційно, згідно вимог до докторських дисертацій і містить 320 сторінки тексту комп'ютерного набору, містить 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). Бібліографічний опис джерел літератури та додатки викладені на сторінках. Робота ілюстрована 89 таблицями, 72 рисунками.

Текст дисертації, як за змістом, так і редакційно, викладено та оформлено дисертантом якісно. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки.

#### **7. Характеристика розділів роботи**

У вступі автор обґрунтовує актуальність обраної теми, розкриває зв'язок з науковою програмою, формулює мету та задачі дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, особистий внесок здобувача, апробацію дисертації, наводить кількість публікацій за темою дисертаційної роботи. Дисертант досить повно відобразив сутність і стан наукової проблеми та її значущість, підстави та вихідні дані для розроблення теми, обґрунтував необхідність проведення дослідження за темою дисертаційної роботи.



У 1-му розділі автор інформативно розкриває тему патогенезу гострого абдомінального синдрому. Поетапно описує патогенез та форми гострого апендициту, гострого калькульозного холециститу та його гнійно-запальних ускладнень (деструкція стінки жовчного міхура, холедохолітиаз, холангіт, механічна жовтяниця, підпечінкові та навколоміхурові абсцеси, перитоніт) та гострого флегмонозно-гангренозного холециститу, гострого неспецифічного мезентеріального лімфаденіту, та особливостей протікання абдомінального туберкульозу. Приділяє значну увагу сучасним уявленням про імунні аспекти патогенезу гострих запальних захворювань органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу. Інформативно висвітлює механізми імунної реактивності та клітин імунної системи, як основних факторів для її забезпечення, приділяючи значну увагу ролі нейтрофілів та цитокінів при розвитку синдрому системної запальної відповіді. Приділяє увагу забезпеченню запальними реакціями очищення внутрішнього середовища організму як від чужерідних елементів, так і від пошкоджених, змінених своїх. Зазначається, що нормально функціонуючі контрольні механізми імунної системи перешкоджають безконтрольному виділенню цитокінів й інших медіаторів запалення, забезпечують адекватну місцеву реакцію на патоген. Також у даному підрозділі відведена роль опису ендотеліальних клітин, як звязуючої ланки між клітинами паренхіматозних органів і циркулюючими в кровоносному руслі тромбоцитами, макрофагами, нейтрофілами, цитокінами і їх розчинними рецепторами, чим пояснюється швидке та чутливе реагування ендотелію мікроциркуляторного русла на зміну концентрації медіаторів запалення в крові, так на вміст їх поза судинним руслом. Зазначається, що ендотеліоцити знаходяться в центрі всіх реакцій, що розвиваються при запаленні і після стимуляції їх цитокінами набувають здатності „скеровувати” лейкоцити до місця пошкодження.

Також розкриваються закономірності взаємодії цитокінів з системами організму з одного боку і патогенетичного фактору з іншого; висвітлюється роль Treg клітин. Також автор інформативно та змістовно висвітлює прояви активації лімфоцитів та значення адаптивного імунітету.

Описані також гуморальні медіатори імунної системи. Інформативно описані властивості цитокінів та система їх взаємодій. Зазначається, що цитокіни впливають практично на всі органи та системи, які беруть участь у регуляції гомеостазу організму. Вказано також, що особливе місце в родині цитокінів належить інтерлейкінам, а саме IL-1 $\beta$ , 2, 6, 8, 10 та фактору некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ). Описано роль кожного із зазначених маркерів.

Також інформативно висвітлено роль системи оксиду азоту у нормі та патології і при регуляції імунної відповіді. Надана характеристика кожної із ізоформ NO-синтаз. Та властивостей самого оксиду азоту, їх різнонаправленості при



фізіологічному синтезі та гіперпродукції.

Інформативно висвітлені особливості імунної відповіді в цілому у патогенезі гострого запалення органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу (хронічного абдомінального запалення). Зазначається, що хронізація запального процесу супроводжується зміною цитокінового фону, який визначає величину і направленість дії лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів. Основними медіаторами гострого запального процесу є IL-1 та TNF- $\alpha$ , а медіаторами хронічного запалення є IL-6 та гамма-інтерферон. Також звертається увага на те, що імунна відповідь при туберкульозі значно відрізняється від такої при інших інфекційних захворюваннях. Механізм протитуберкульозного імунітету визначають три основні чинники: гіперчутливість сповільненого типу або туберкулінова алергія, антитілоутворення і фагоцитоз. Автор також зазначає, що і імунна відповідь на туберкульоз становить складну взаємодію між різними клітинними популяціями, які повинні контролювати і стримувати інфекцію, а також перешкоджати подальшій реактивації. А головна протективна роль при туберкульозній інфекції належить, в першу чергу, макрофагам та лімфоцитам.

Також у даному розділі автор інформативно описує патогенетичну роль ендогенної інтоксикації при запаленні. Зазначає, що незалежно від етіологічного фактора симптоми ендогенної інтоксикації мають загальні риси та клінічні прояви. І механізм поетапного розвитку цих симптомів – від змін у первинному вогнищі ураження до генералізації процесу вважається практично ідентичним, що дає підстави говорити про наявність неспецифічного синдрому ендогенної інтоксикації. Даний синдром доволі достатньо та інформативно розглянутий дисертантом.

Дисертант інформативно описує роль оксиду азоту та його взаємовплив з розвитком синдрому ендогенної інтоксикації.

Також автор зазначає, що цитокіновий профіль залежить від форми, характеру та особливостей перебігу туберкульозної інфекції. Оцінка стану імунної системи є невід'ємною складовою всіх об'єктивних досліджень, які повинні проводитись для верифікації будь-якого діагнозу, а також для визначення ефективності застосованого лікування та визначення повноти одужання хворого.

У 2-му розділі автор структурує та детально описує усі матеріали та методи, використані в даному дослідженні. Детально надає характеристику усіх груп та представляє дизайн дослідження. Дисертант детально та інформативно описує методики дослідження усіх показників, проаналізованих в експерименті. Методики зазначені поетапно та в достатній мірі детально. Статистична обробка одержаних даних була проведена ретельно та інформативно, із використанням дисперсійного, кореляційного, факторного статистичного аналізу.

**Розділ 3** присвячений оприлюдненню результатів власних досліджень



автора. Складається із семи підрозділів, які також є структурованими.

У підрозділі **3.1.** автор висвітлює результати дослідження адаптаційних реакцій та інтегральних гематологічних індексів неспецифічної резистентності при запаленні органів черевної порожнини. Окремо представлені результати дослідження гемограми при гострих абдомінальних захворюваннях в залежності від форми запалення. Автором встановлено, що при деструктивних формах гострого апендициту лейкоцитарний профіль крові вірогідно відрізняється від контрольного та від гострого неускладненого процесу, яким є гострий мезаденіт та гострий катаральний апендицит. Також виявлено, що при деструктивних формах гострого запального процесу достовірно знижується відносна кількість моноцитів, найнижчі значення яких зафіксовані для гангренозного запалення, що може свідчити про важку форму запального процесу з інтоксикацією. Дисертант зазначає, що зменшення кількості моноцитів у крові є однією із ознак порушення процесів регенерації. Також в ході роботи встановлено, що для деструктивного запалення встановлено зниження відносної кількості еозинофілів, що також свідчить про інтоксикацію. Спостерігається збільшення загальної кількості лейкоцитів за рахунок нейтрофільних гранулоцитів. Це також є інформативним у зв'язку з тим, що активовані нейтрофільні гранулоцити виділяють ряд прозапальних цитокінів, вони здатні презентувати антиген у комплексі з молекулами МНС класу II і активувати таким чином Т-лімфоцити.

При ускладнених формах гострого запалення, встановлено підвищену абсолютну кількість сегментоядерних нейтрофілів та паличкоядерних нейтрофілів, значне зниження кількості еозинофілів порівняно з контролем та гострими запальними процесами без ускладнень.

Наступний підпункт присвячений дослідженню інтегральних гематологічних індексів у хворих на запальні процеси органів черевної порожнини. В даному пункті представлені результати дослідження різних індексів з детальним їх описом, що дозволило отримати нові інформативні дані про патогенез досліджуваних запальних процесів.

У підпункті **3.1.3** автор описує виявлені в ході дослідження загальні неспецифічні адаптаційні реакції у хворих на запальні процеси органів черевної порожнини. У даному підпункті дисертантом встановлене наступне: гострі неускладнені запальні абдомінальні захворювання перебігають в основному на тлі загальних неспецифічних адаптаційних реакцій еустресу (реакції спокійної та підвищеної активації) та реакції орієнтування. Інтегральні індекси неспецифічної резистентності відрізнялися від норми на 25%. А при ускладнених та деструктивних формах гострого запального процесу в черевній порожнині спостерігали більшу частоту виявлення несприятливих ЗНАР дистресу та зміни показників інтегральних гематологічних індексів



неспецифічної резистентності у 2-5 разів порівняно з контролем. Також виявлено, що при хронічному запаленні у черевній порожнині (абдомінальний туберкульоз) переважали ЗНАР спокійної та підвищеної активації, індексні показники неспецифічної резистентності наближені до значень контролю

Наступний підрозділ дисертаційної роботи (3.2) присвячений оприлюдненню результатів аналізу функціонального стану клітинної ланки імунної системи при запаленні органів черевної порожнини. Зазначається, що перерозподіл в популяційному складі циркулюючих лімфоцитів може відображати як загальну імунологічну реакцію організму на запалення, так і запальний процес у мезентеріальних лімфовузлах.

У першому підпункті даного підрозділу (3.2.1) автор описує виявлені в результаті проведеної роботи особливості експресії фенотипових маркерів лімфоцитів периферичної крові у хворих на ургентну абдомінальну патологію. Для визначення фенотипу лімфоцитів аналіз CD маркери лімфоцитів крові (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) і (вміст Т-лімфоцитів, Т-хелперів, Т-цитотоксичних лімфоцитів, В-лімфоцитів, НК-клітин). Звертає на себе увагу інформативність досліджуваних автором індексів – відношення абсолютної кількості популяцій лімфоцитів - LNKI, LTI, LBI, які, як встановив автор у 1,5-2 рази від даних контрольної групи, у той час, як індекс відношення відносних величин вмісту лімфоцитів (PI, Т-ЛЦ/В-ЛЦ) виявився неінформативним в умовах даного дослідження.

Також хотілося б висвітлити ще деякі результати, оприлюднені автором у даному підпункті. Дисертантом було встановлено, що у пацієнтів з гострим калькульозним холециститом абсолютна кількість циркулюючих Т-лімфоцитів не відрізнялася від показника контрольної групи, а при ускладненому перебігу - була на 30,5% меншою порівняно з контрольним значенням. Встановлена активація кілерної та гуморальної ланки специфічного імунітету у хворих на деструктивні форми апендициту. Автор обґрунтовує те, що отримані ним результати свідчать про наявність Т-клітинного імунодефіцитного стану у хворих на абдомінальний туберкульоз.

У другому (3.2.2.) розкривається патофізіологічне значення експресії активаційних маркерів на лімфоцитах периферичної крові у хворих на різні форми запального процесу в органах черевної порожнини.

Представлені результати свідчать про формування Т-клітинного імунодефіцитного стану з активацією гуморальної та кілерної ланок імунітету. Інформативними та безумовно вартими уваги є підсумки даного пункту, в яких йдеться про те, 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. У хворих на деструктивні форми гострого апендициту та на абдомінальний туберкульоз переважають процеси активації апоптозу над проліферацією лімфоцитів (переважання експресії CD95 на експресією CD25).

Третій підрозділ містить дані щодо результатів аналізу цитокінів у патогенезі запалення органів черевної порожнини. Він складається з шести підпунктів, присвячених обраним для дослідження цитокінам при гострому запаленні органів черевної порожнини та абдомінальному туберкульозі.

Так **підпункт 3.3.1.** містить результати дослідження фактора некрозу пухлин альфа. У даному підпункті звертає на себе увагу те, що при гангренозній формі гострого апендициту та при гнійно-септичних ускладненнях гострого калькульозного холециститу вміст TNF- $\alpha$  є більшим у 6,5-8,0 раза порівняно з контролем. При абдомінальному туберкульозі та катаральних формах запалення міст TNF- $\alpha$  більший від контролю у 2,5-3,0 раза.

У наступному підпункті встановлена роль інтерлейкіну I бета та інтерлейкіну 6 при досліджуваних патологічних процесах. Встановлено їх підвищення при усіх досліджуваних нозологіях. Також автором оприлюднені результати їх співвідношення, яке дозволяє прослідкувати динаміку цитокіну «першого каскаду» та цитокіну «другого каскаду», що є важливим моментом для розуміння патогенезу досліджуваних запальних процесів.

**Підпункт 3.3.3** присвячений встановленню ролі регуляторних цитокінів трансформуючого фактора росту бета та інтерлейкіну 10. Значне підвищення вмісту останнього при абдомінальному туберкульозі та апендикулярному інфільтраті порівняно із значенням при флегмонозному апендициті, що є свідченням хронізації запального процесу. Що стосується TGF- $\beta$ , то найнижче значення його було встановлено при дослідженні у пацієнтів з гангренозною формою гострого апендициту.

У **підпункті 3.3.4** описані результати дослідження ролі інтерлейкіну 2 та інтерлейкіну 4. Також дисертант провела аналіз їх співвідношення для визначення зміщення рівноваги у системі Т хелперів I та II типів, провідних патогенетичних ланок розвитку запалення. Звертають на себе увагу отримані дані про те, що при флегмонозній формі запалення значення співвідношення було у 4 рази вищим, а при гангренозній – у 57,7 раза вищим порівняно із контролем. Тобто характеризуючи гангренозне запалення можемо стверджувати про значну активацію Т хелперів I типу при гангренозному запаленні про переважання клітинної імунної відповіді, про активацію цитотоксичних лімфоцитів та про підвищення проліферативних процесів лімфоцитів. Зазначені дані є інформативними і ждля порівняльної характеристики гангренозного та флегмонозного запалення.



Роль інтерлейкіну 17 та інтерлейкіну 8 в патогенезі гострого запалення органів черевної порожнини та абдомінального туберкульозу описана дисертантом у **підпункті 3.3.5**. Встановлене підвищення рівня даних цитокінів при досліджуваних патологічних станах. Дельно зазначено виявлені закономірності їх динаміки в залежності від форми запалення.

Звертає на себе увагу **підпункт 3.3.6**, в якому автор комплексно характеризує отримані дані про взаємозв'язки між досліджуваними цитокінами у патогенезі абдомінального запалення. Дисертантом було встановлено, що при гострих неспецифічних абдомінальних запальних захворюваннях переважає активація Th1 над активацією Th2, Th17 та Treg, що підтверджується значно більшим зростанням вмісту IL-2 над збільшенням вмісту IL-10 та IL-4. При хронічній патології спостерігали істотне підвищення вмісту IL-2 з одночасним підвищенням рівнів IL-10 та TGF  $\beta$ 1. Отримані результати мають велике значення як для більш повного розуміння патогенезу даних станів, так і для диференційної діагностики досліджуваних захворюваннях.

У **підрозділі 3.4**, автор систематизує результати дослідження гуморальних фактори імунітету у патогенезі запалення органів черевної порожнини. Значна увага в даному підрозділі приділяється дослідженню С-реактивного протеїну. Встановлено підвищення його концентрації при деструктивних формах гострого апендициту, причому, його вміст був вищим при гангренозній формі порівняно з флегмонозною. У хворих на абдомінальний туберкульоз виявлено, що цей показник був достовірно нижчим від показника при гострому мезаденіті вдвічі і у 1,7 рази вищим від контролю, однак у межах фізіологічної норми. Автор пояснює отримані результати тим, що С-реактивний білок підвищується у початковій фазі гострого запалення, а зміни, виявлені при абдомінальному туберкульозі є характерними для динаміки цього маркера в умовах хронічного запального процесу.

Також інформативним був вирахований автором індекс активності запалення (на основі аналізу гострофазних показників), який був значно знижений при деструктивних формах запалення, що є маркером розвитку системної запальної реакції при досліджуваних патологічних станах.

Інформативним диференційним маркером виявився також прокальцитонін, який характеризувався різною динамікою при системній запальній відповіді з бактеріальним компонентом та локальній інфекції бактеріального генезу без генералізації. Також про активацію гуморальної імунної відповіді свідчить встановлена в даному підрозділі дисімуноглобулінемія при досліджуваних патологічних процесах.

**Підрозділ 3.5** містить дані про функціональну активність нейтрофілів при гострих запальних процесах органів черевної порожнини та абдомінальному



туберкульозі, які дають змогу проаналізувати процеси фагоцитозу при досліджуваних патологіях. Автор досліджувала функціональну здатність цих основних ефекторів клітинної ланки природженого імунітету за поглинальною здатністю, активністю окисно-відновних процесів і вмістом бактерицидних катіонних лізосомальних білків. Встановлено, що нейтрофільні гранулоцити периферичної крові за умов гострого запалення володіють зниженою поглинальною функцією з одночасною значною активацією окисно-відновних процесів та збільшується кількість 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 значень контрольної групи.

Дуже важливим для повного аналізу досліджуваної проблеми та розуміння її патогенетичних ланок є **підрозділ 3.6**, присвячений детальному дослідженню ролі ендогенної інтоксикації у патогенезі запалення органів черевної порожнини. Він складається із трьох підпунктів. Як зазначає автор, для оцінки ендогенної інтоксикації було вибрано біохімічні фактори, які відображають основні патологічні зміни зумовлені нагромадженням у кров'яному руслі токсичних речовин, концентрації яких перевищують функціональні можливості детоксикаційних систем.

У **першому (3.6.1)** представлені результати дослідження вмісту молекул середньої маси та циркулюючих імунних комплексів у крові хворих на гострі захворювання органів черевної порожнини та абдомінальний туберкульоз у комплексній оцінці ендогенної інтоксикації. У даному підрозділі встановлене зростання вмісту молекул середньої маси у хворих. Варто зауважити, що самі молекули середньої маси, як продукти розпаду білків, обтяжують патологічний процес, діючи в якості вторинних ендотоксинів. Значна увага приділяється аналізу відмінностей молекул середньої маси, їх фракцій та коефіцієнту розподілу при усіх досліджуваних автором нозологіях.

Автором було встановлено, що рівень циркулюючих імунних комплексів, який відображає активацію гуморального імунітету у досліджуваних груп пацієнтів порівняно із контролем.

Наступний підпункт присвячений ролі білірубину при досліджуваних патологічних станах. Отримані автором результати свідчать про те, що підвищений вміст у крові білірубину є специфічним маркером гострого апендициту, особливо перфоративного, і деструктивних форм, що може бути використано для диференційного діагнозу гостро деструктивного апендициту, гострого холециститу, від інших форм гострого абдомінального білю, особливо тих, що не потребують оперативного втручання. Результати вивчення вмісту



білірубину у крові при гострому мезаденіті свідчать про відсутність вірогідної різниці у концентрації білірубину та його фракцій порівняно із контролем. Також автором було детально оприлюднено результати, які свідчать про те, що у групах хворих із ускладненими перебігом запалення на тлі наростаючої ендогенної інтоксикації також спостерігали тенденцію до зниження вмісту загального білка та альбуміну – як основного білкового фактора детоксикації при метаболічній інтоксикації.

У підпункті 3.6.3 дисертант представила результати аналізу функціонального стану NO-синтази та вмісту метаболітів оксиду азоту при абдомінальному запаленні. Звертає на себе увагу ряд моментів даного фрагменту дисертаційної роботи: автором доведено, що результати роботи свідчать про компенсаторне значення синтезу оксиду азоту у хворих на ГКХ та переважання NO-синтазного шляху. Підвищення експресії iNOS у групі хворих на ГКХ із ГСУ можна оцінити як зміщення у напрямку неокисного синтезу оксиду азоту. Виявлена активація NO-синтази і збільшення рівня стабільних метаболітів NO, які найбільш виражені при ускладнених та деструктивних формах запалення органів черевної порожнини, що свідчить про патогенетичну роль оксиду азоту і можливість використання показників у диференційній діагностиці форми запального процесу.

В ході дослідження підтверджені відомі з літературних джерел дані про зростання активності моноцитарно-макрофагальної системи та продукції прозапальних цитокінів при досліджуваних патологічних станах, наслідком дії яких є підвищення активності індукцибельної синтази оксиду азоту.

Також значне теоретичне та практичне значення мають результати оприлюднені у **підрозділі 3.7**, в якому автор описує результати проведеного нею кореляційного, дисперсійного та факторного аналізу в оцінці функціонального стану імунної системи при гострих захворюваннях органів черевної порожнини та абдомінальному туберкульозі. Звертає на себе увагу те, що на основі факторного аналізу було виявлено групи показників, об'єднані спільною функцією. Факторний аналіз дає змогу виявити регуляторні впливи на імунну відповідь з боку цитокінів в умовах різних форм запалення. Так виявлено, що при хронічному запаленні можна виділити усього 2 фактори, які повністю на 100% будуть описувати дисперсію у групі, у той час, як при гострому гангренозному апендициті – 3 фактори пояснюють лише 92,7% дисперсії, що свідчить про розбалансування регуляторних систем за умов деструктивного запального процесу.

У **розділі 4** «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автор чітко узагальнює усі отримані результати, порівнюючи свої дані з літературними, що свідчить про його вміння фахово аналізувати та обґрунтовувати результати



наукових досліджень. На початку розділу ґрунтовно обґрунтовано мету, структуру та вибір об'єктів дослідження. У вигляді наочних схем представлений дизайн дослідження. Описані структурно-функціональні рівні на яких аналізували функціональний стан імунної системи при досліджуваних патологічних станах. Дисертантом змістовно обґрунтовано усі отримані результати та особливості динаміки кожного із досліджуваних показників. З посиланнями на літературні дані представлені виявлені в ході роботи зміни імунорами притаманні для кожної із проаналізованих нозологій. На рис.3. даного розділу представлено порівняння конфігурацій імунограм.

Також значна увага у даному підрозділі відведена обговоренню отриманих результатів дослідження активаційних маркерів (CD); які, як зазначає автор є одним із перспективних підходів до встановлення функціонального стану імунної системи. Автор зазначає, що вивчення процесів активації при патології має значення для встановлення особливостей патогенезу абдомінального запалення і важливий прогностичний характер.

Аналізуючи дані, отримані при дослідженні показників імунної системи при абдомінальному туберкульозі автор зазначає, що при даній патології популяція Т-хелперів має тенденцію до зниження, одночасно активується ланка цитотоксичних лімфоцитів, що характеризує хронічний запальний процес. У пацієнтів з туберкульозним процесом локалізованим в черевній порожнині спостерігається формування Т-клітинного мунодефіцитного стану та активація гуморальної та клієрної ланок імунітету. У хворих на абдомінальний туберкульоз підвищена кількість CD23+ лімфоцитів, що свідчить про розвиток гіперчутливості I типу, переважають процеси активації апоптозу над проліферацією лімфоцитів, про що свідчить переважання експресії CD95 на експресією CD25.

Надана розгорнута характеристика цитокинової мережі, в якій інформативно проведене порівняння та «дискусія» між даними, відомими з літературних джерел та власними результатами автора.

Також в даному розділі автор детально описує результати проведеного факторного аналізу, за допомогою якого було підтверджено припущення, що IL-2 та TNF- $\alpha$ , як основні прозапальні цитокіни, є факторами, які визначають вектор запалення. І що дані показники, а також їх співвідношення із протизапальними чинниками можуть бути маркерами форми запального процесу.

Має також значну теоретичну та практичну цінність проведене автором співвідношення сироваткових рівнів цитокінів в умовах дослідження. Автором встановлено, що рівень прозапальних цитокінів IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 і TNF- $\alpha$  є високоефективним прогностичним і раннім діагностичним критерієм формування запальних інфільтратів черевної порожнини. А зниження рівня IL-1 $\beta$  при одночасному збільшенні кількості IL-8 і TNF- $\alpha$  з високим ступенем достовірності



свідчить про можливість виникнення запальних інфільтратів черевної порожнини із подальшим формуванням внутрішньочеревного абсцесу.

Значна увага приділяється автором також ролі апоптозу при досліджуваних патологічних станах та вивченню особливостей вмісту СРП,  $\alpha 2$ -МГ,  $\alpha 1$ -АТ та ФГ при абдомінальному туберкульозі.

Також має значне теоретичне та практичне значення висвітлення автором усіх ланок та особливостей розвитку ендогенної інтоксикації при досліджуваних патологічних станах.

Висновки логічні, стислі, відображають отримані результати, відповідають меті та задачам дослідження та свідчать про завершеність роботи.

Список літератури складений грамотно, згідно вимогам бібліографічного опису ДАК України.

#### **8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.**

За темою дисертаційної роботи опубліковано 57 наукових праць, зокрема 23 статті у наукових фахових виданнях з біології, затверджених ДАК України, 6 статей у закордонних фахових періодичних виданнях, 5 статей у медичних виданнях, 21 публікації у вигляді тез; 2 патенти.

Апробація роботи проведена на: науково-практичній конференції з міжнародною участю „Актуальні питання клінічної та лабораторної імунології, алергології та імунореабілітації” (Київ, 2008), науково-практичній конференції з міжнародною участю „Імунотерапія, імунoproфілактика в клінічній практиці: реалії та перспективи” (Львів, 2009.), науково-практичній конференції „Медична наука – 2009” (Полтава, 2009), науково-практичній конференції з міжнародною участю „Современные теория и практика клинической иммунологии и аллергологии” (Київ, 2010), Пленумі наукового товариства патофізіологів України „Сучасні аспекти типових патологічних процесів”, 2010, Науково-практичній конференції „Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни”, 2010, XIV Конгресі Світової Федерації українських лікарських товариств (Київ, 2012), науково-практичних конференціях “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів” (Тернопіль, 2012, 2014, 2016), на міжнародній конференції «Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21 st century» (Київ, 2016), на симпозіумі Українського товариства з клінічної лабораторної діагностики (Київ, 2013), на Міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика: виклики і сьогодення» Львів 25-26 липня 2014, на V Науковому симпозіумі “Імунопатологія при захворюваннях органів дихання і травлення” (з міжнародною участю) (20-22 вересня 2017 р.), на 7-й міжнародній Вайгелівській конференції (26-29 вересня 2017 р.), на 1-му симпозіумі «Medicine UpDate» (5-7 жовтня 2017 р.), на III національному конгресі



з імунології, алергології та імунореабілітації (17-19 квітня 2018, Дніпро, Україна), на засіданнях Львівського обласного товариства лікарів-лаборантів (2008, 2010, 2013, 2016 рр.).

#### **9. Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації**

Автореферат дисертації за змістом та формою відповідає вимогам ДАК України і містить усі основні положення дисертації.

#### **10. Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження.**

Позитивно оцінюючи роботу в цілому, слід відзначити деякі побажання:

Рекомендовано таблицю 1 («Частота виявлення загальних адаптаційних реакцій у хворих на гострі та хронічні абдомінальні захворювання») із розділу «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» розмістити у розділі №3, а сам розділ 4 (другу його частину) ілюструвати більшою кількістю графічно представленого матеріалу для покращення наочності сприйняття інформації (наприклад доволі інформативним було б відображення встановленого співвідношення сироваткових цитокінів у вигляді графіків)..

Також трапляються незначні стилістичні недоліки.

Однак вказані критичні міркування не зменшують науково-теоретичного і практичного значення дисертації Акімової В.М. та цінність отриманих результатів.

Варто відзначити, як вагомий позитивний момент, значну кількість та інформативність досліджуваних показників.

Безумовно позитивним є формування автором схем патогенезу досліджуваних аспектів, що свідчить про ерудованість автора, уміння аналітично представити отримані дані. Також дане представлення матеріалу є інформативним та наочним.

Звертає на себе увагу якісне оформлення дизайну дослідження, представлене у розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження»: «Схема вибору нозологій для дослідження» та «Принципова схема функціонування імунної системи в умовах запалення».

Також варто звернути увагу на проведену та детально обґрунтовану автором порівняльну характеристику реагування імунної системи на гострі абдомінальні захворювання та абдомінальний туберкульоз з урахуванням патогенетичного взаємовпливу мікобактерій туберкульозу та цитокінової мережі.

Варто зауважити, що інформативним для розуміння патогенетичних ланок досліджуваної проблеми був не лише аналіз співвідношення цитокінів а і інформативно проведене автором дослідження їх індексів.



Також важливим позитивним моментом є наявність у розділі №3 значної кількості таблиць та графіків, в яких автор інформативно та структуровано представляє отримані результати.

**При рецензуванні дисертації виникли наступні запитання дискусійного характеру:**

1. При дослідженні циркулюючих імунних комплексів Вами було встановлено, що при патологічних абдомінальних станах їх рівень був достовірно вищим за значення контрольної групи, але (окрім групи з апендикулярним інфільтратом) знаходився в рамках фізіологічної норми. Як Ви вважаєте, чи є даний показник інформативним діагностичним маркером в даних умовах? Обґрунтуйте, будь ласка.

2. В ході роботи Вами була проведена значна кількість співвідношень досліджуваних показників (визначення індексів при аналізі цитокінів, кореляційний аналіз). Які, на Вашу думку, результати співвідношень є найбільш інформативними для розуміння патогенезу досліджуваної теми та інформативності подальшої діагностики?

3. При дослідженні індекса маніфестації запалення (співвідношення IL-1/IL-10) встановлено зміщення цитокінового балансу в бік прозапальних медіаторів у групі з гострим флегмонозним апендицитом та в бік протизапальних медіаторів у групі з гострим гангренозним апендицитом. Ви пояснюєте це тим, що при гострому гангренозному апендициті запальний процес набуває хронічного характеру зі значною імуносупресією, тому протизапальні медіатори значно переважають над прозапальними порівняно з показником у здорових. В той же час Вами встановлено, що при абдомінальному туберкульозі досліджуване співвідношення становило не відрізнялося від контролю і незважаючи на підвищені значення IL-1 та IL-10 порівняно з контролем, співвідношення їх було на рівні норми. Як Ви можете пояснити зазначену особливість індекса маніфестації при абдомінальному туберкульозі?

#### **11. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.**

Дисертантом вирішене важливе науково-практичне завдання – удосконалення диференційної діагностики запальних захворювань органів черевної порожнини шляхом виявлення високоінформативних маркерів функціонування імунної системи при гострих і хронічних запальних процесах.

Покращення диференційної діагностики запальних захворювань у черевній порожнині дасть можливість зменшити кількість негативних апендектомій, які створюють непотрібні ризики та затрати коштів як для пацієнта, так і для лікуючої установи.

Доведено, що ретельний аналіз неспецифічних та специфічних реакцій імунокомпетентних клітин повинен визначати терапевтичну тактику лікаря з



урахуванням особливостей функціонування імунної системи, тому пацієнти з АТ потребують спостереження лікаря-імунолога.

Вивчення резервних, компенсаторно-адаптивних реакцій імунної системи, механізмів формування імунної недостатності дозволить обґрунтувати стратегію імунокорекції при а запальних захворюваннях органів черевної порожнини.

Також в ході роботи дисертантом встановлена цінність дослідження ступеню збільшення прозапальних цитокінів, як важливих критеріїв, які можуть покращити прогнозування та власне діагностику розвитку гнійно-запальних ускладнень

**12. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**  
На підставі вищезазначеного можна дійти висновку, що дисертаційна робота **Акімової Віоріки Миколаївни «Імунні механізми в патогенезі запалення органів черевної порожнини»** є самостійним, закінченим науковим дослідженням,

в якому сформульовано і обґрунтовано наукові положення, сукупність яких можна кваліфікувати як нове вирішення актуального наукового напрямку патологічної фізіології. За актуальністю, об'ємом, використанням методів досліджень, новизною отриманих даних подана дисертація відповідає пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. та №1159 від 30.12.2015

р., та вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія, а дисертант заслуговує присвоєння вченого ступеня доктора медичних наук.

**Офіційний опонент:**

професор кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України доктор медичних наук, професор

I.V. Савицький

**Підпис I.V. Савицького ЗАСВІДЧУЮ:**

**Вчений секретар Одеського національного медичного університету,**  
доктор медичних наук, професор



О.Л. Аппельханс