

ВІДЗИВ

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора Мельникова О.Ф., завідувача лабораторії патофізіології та імунології ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України» на кандидатську дисертацію Герасимюка М.І. «Оптимізація діагностики та вибору методу лікування хворих на хронічний тонзиліт шляхом визначення субпопуляційного складу лімфоцитів у крові та тканині мигдаликів», поданої до офіційного захисту у спеціалізовану вчену раду Д 26.611.01 при ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України» за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія

Актуальність теми.

Захворювання запально-інфекційної природи лімфаденоїдного глоткового кільця Пирогова-Вальдейера на даний час є досить поширеними у клінічній практиці. Із них найбільш поширеним є хронічний тонзиліт.

За даними вітчизняних і зарубіжних авторів, поширеність хронічного тонзиліту серед населення коливається в широких межах: у дорослих вона становить від 5-6 до 37%, у дітей-від 15 до 63%. Однак, слід зазначити, що справжня поширеність хронічного тонзиліту досліджена недостатньо. За даними багатьох дослідників, його частота серед різних контингентів населення може коливатися від 0,8 до 45% і більше. Це може бути наслідком того, що між загостреннями процесу, симптоми захворювання бувають багато в чому звичними і мало або зовсім не турбують пацієнта, що значно занижує дійсну поширеність захворювання. Визнання важливої ролі лімфоепітеліальних утворень глоткового кільця Пирогова-Вальдейера в захисних реакціях організму диктує необхідність реалізації сучасних теоретичних досягнень, в першу чергу імунологічних, в руслі завдань практичної отоларингології. Саме імунологічні дослідження і експерименти дозволили сформуванню стратегію ставлення до лімфоїдним структурам глотки, як безумовно активних компонентів системи імунітету з особливими функціями, необхідності їх збереження в організмі за винятком тих випадків, коли вони дійсно перетворюються в осередок інфекції, їх етіологічна роль у

виникненні супутніх захворювань є доведеною, а консервативні методи лікування малоефективні.

Серед медико-соціальних завдань, що визначають наукову і практичну стратегію у вирішенні проблеми хронічного тонзиліту, центральне місце займають питання діагностики захворювання, які в свою чергу базуються на підходах до визначення функціонального стану піднебінних мигдаликів, їх «залишкового резерву», що базується на визначенні показників місцевого та системного імунітету.

На жаль, як в Україні, так і в багатьох країнах Європи питання про видалення або збереження піднебінних мигдаликів в організмі часто вирішується суб'єктивно лікарем-отоларингологом, або на рівні примітивних шкал, або за частотою загострень (ангін). Існує декілька нових підходів до імунодіагностики із застосуванням адекватних «навантажень» на тканину піднебінних мигдаликів, де за рівнем імунної відповіді визначають ступінь ураження і вирішують питання щодо стратегії лікування. Поряд з цим підходом можливі і інші розробки із застосуванням імунологічних та інших лабораторних методів, що будуть сприяти об'єктивній оцінці стану хворого на хронічний тонзиліт та вибору метода лікування. Все вищезгадане дає підставу вважати репрезентовану роботу актуальною.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації Герасимюка М.І. оснований на наступному.

Для дослідження застосовано комплекс клінічних і морфологічних методик, як традиційних, так і сучасних. З метою встановлення рівня різних субпопуляцій лімфоцитів, а також їх апоптозу і некрозу у тканині мигдаликів та у периферичній крові застосовано проточну цитофлюорометрію. Рівень окремих цитокінів визначався методом імуноферментного аналізу. Гістологічні морфометричні дослідження проводилися з використанням світлової мікроскопії і відповідних вимірювальних засобів. Застосовані

методики є достатньо інформативними та дають змогу об'єктивно оцінити зміни стану піднебінних мигдаликів у хворих на хронічний тонзиліт.

Робота базується на основі результатів обстеження 88 хворих віком від 18 до 74 років чоловічої та жіночої статі. Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб без ознак ЛОР-патології. Крім того, проведено ретроспективний аналіз 272 карт стаціонарного хворого, пацієнтів, які перебували на стаціонарному лікуванні з приводу хронічного тонзиліту.

Висновки дисертації та практичні рекомендації повністю відповідають меті і завданням дослідження, цілком обґрунтовані отриманими статистично достовірними даними і логічно випливають з результатів проведених досліджень.

Достовірність і новизна отриманих результатів.

Для об'єктивізації результатів дослідження автором застосовано дослідження їх кількісних характеристик з наступною статистичною обробкою цифрового матеріалу. Статистичну обробку отриманих цифрових даних здійснювали методом варіаційної статистики з використанням U-критерію Манна-Уїтні, F-критерію Фішера та однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (USA) та Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA).

За результатами детального комплексного обстеження встановлено взаємозв'язок між зміною рівнів та співвідношень різних субпопуляцій лімфоцитів, станом апоптозу і некрозу лімфоцитів у клітинному завісі з тканини ПМ і периферичній крові, а також проведено їх співставлення з рівнем цитокинів, що визначають рівні та вектори імунної відповіді : інтерлейкін-4 і гамма-інтерферону.

Встановлено достовірне ($p < 0,05$) зниження кількості балів за клінічними показниками у хворих на хронічний тонзиліт як при зниженні у

процесі лікування співвідношення IFN- γ /IL-4, так і при його підвищенні, а також різницю між ними. Встановлено також достовірне зниження рівня субпопуляцій CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів як у гомогенаті піднебінних мигдаликів, так і у периферичній крові, причому без суттєвої відмінності динаміки відносної кількості цих показників у обох досліджуваних тканинах в процесі лікування.

Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових робіт, з них 1 стаття у закордонному журналі, 5 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України, 1 стаття у інших виданнях та 8 тез у матеріалах наукових форумів, крім того, отримано 2 патенти України на корисну модель. У цих публікаціях знайшли відображення всі основні положення дисертаційної роботи.

Оформлення дисертації та її структура. Загальна характеристика дисертації.

Обсяг дисертації складає 172 сторінки комп'ютерного друку формату А4. Текст викладено українською мовою згідно до сучасних вимог. Робота містить 18 таблиць та 18 рисунків. У списку використаної наукової літератури нараховується 296 джерел, з них 221 – кирилицею та 75 – латинським шрифтом.

Робота розпочинається “Анотацією” в якій подано узагальнений короткий виклад основного змісту дисертації, а також публікації автора за її темою. У вступі (9 сторінок тексту) дано обґрунтування актуальності теми, вказано на наукову новизну і практичне значення, а також сформульовано мету та завдання роботи.

Розділ 1. Огляд літератури (23 сторінки тексту). Цей розділ включає п'ять підрозділів. У них проведено аналіз поширеності хронічного тонзиліту, розглянуто питання патогенетичних механізмів його розвитку, особливості морфологічних змін у мигдаликах та їх наслідки при хронічному

тонзиліті, а також дано характеристику субпопуляційного складу лімфоцитів, рівнів прозапальних і протизапальних цитокінів та їх зміни при даному захворюванні. Проведено аналіз наукової літератури щодо співвідношення апоптозу і некрозу в піднебінних мигдаликах при хронічному тонзиліті та розглянуто сучасні методичного лікування. Крім цього у цьому розділі наведено дані щодо сучасних класифікацій хронічного тонзиліту, його загальні морфологічні ознаки. Відмічено, що тема хронічного тонзиліту вже вийшла за межі оториноларингології і має надзвичайно важливе значення в клініці внутрішніх хвороб, а раціональна терапія гострих тонзилітів становить великий інтерес для фахівців у багатьох галузях медицини.

Розділі 2. Матеріал і методи обстеження (11 сторінок тексту). У цьому розділі відмічено, що для реалізації поставленої мети і завдань було проведено ретроспективний аналіз 272 карт стаціонарного хворого, пацієнтів, які перебували на лікуванні у оториноларингологічному відділенні з приводу хронічного тонзиліту за даними клінічного обстеження, а також обстежено 88 хворих віком від 18 до 74 років чоловічої та жіночої статі з різними формами хронічного тонзиліту у період загострення і 15 практично здорових осіб.

При клінічній оцінці стану хворих на хронічний тонзиліт та ефективності його лікування користувалися запропонованою Д.І. Заболотним і співавторами (2012) бальною оцінкою за клінічними показниками. Ступінь гіпертрофії піднебінних мигдаликів визначали за методом Б.С. Преображенського (А.С. Журавлев і інш., 2014).

Визначення стану субпопуляційного складу лімфоцитів крові, стану апоптозу і некрозу, а також їх співвідношення AN/P1 в лімфоцитах гомогенату піднебінних мигдаликів і в периферичній крові визначали на проточному цитофлюориметрі «BeckmanCulterEpix XL» (USA). Рівень цитокінів (гамма-інтерферону – IFN γ та інтерлейкіну-4 – IL-4) лімфоцитів визначали на імуноферментному аналізаторі «STAT FAX 303/PLUS».

Для морфологічного дослідження забирали шматочки тканини видалених піднебінних мигдаликів. Морфометричну оцінку тканин на гістологічних зрізах здійснювали за допомогою окуляр-мікрометра.

Розділ 3 (7 сторінок тексту). Розділ присвячений результатам ретроспективного аналізу карт стаціонарного хворого. Встановлено, що жінки хворіють на хронічний тонзиліт частіше, ніж чоловіки. Найчастіше захворювання реєструється у віковому періоді від 18 до 44 років. Найпостійнішими суб'єктивними симптомами були: скарги на щорічні повторні ангіни, біль у горлі з періодичним посиленням, чи згасанням з посилення у ранкові часи, а також у зв'язку із прийомом холодної їжі чи рідини, першіння, приступи кашлю, періодичне підвищення температури у періоди загострення. Об'єктивно при фарингоскопії найчастіше визначалися: гіперемія і набряклість країв дужок мигдаликів, наявність в криптах рідкого, густого казеозного або у вигляді пробок гнійного вмісту нерідко з неприємним запахом.

Розділ 4 (22 сторінки тексту). За результатами проточної цитофлюорометрії було встановлено, що співвідношення апоптоз/некроз в лімфоцитах периферичної крові при хронічному тонзиліті є відображенням такого співвідношення у лімфоцитах піднебінних мигдаликів. При співставленні з результатами морфологічного дослідження тканини видалених мигдаликів встановлено, що при співвідношенні апоптоз/некроз у лімфоцитах гомогенату піднебінних мигдаликів кратному 2 – 4 морфологічні зміни у самих мигдаликах відповідають гіпертрофічному тонзиліту, при співвідношенні 4 – 6 за даними морфологічних досліджень процес можна вважати субкомпенсованим і при співвідношенні 7 і більше – декомпенсованим.

Розділ 5 (7 сторінок тексту). У цьому розділі викладено результати дослідження гомогенату піднебінних мигдаликів та периферичної крові які свідчать про те, що при хронічному тонзиліті характерним є достовірне зниження рівнів субпопуляцій CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів як у

гомогенаті, так і у крові, причому суттєвої відмінності динаміки відносної кількості різних субпопуляцій лімфоцитів у обох цих тканинах не відмічається.

Розділ 6 (14 сторінок тексту). У даному розділі при порівнянні результатів, отриманих у хворих, яким проводилося оперативне лікування з результатами хворих, яким проводилася консервативна терапія встановлено, що у хворих обох груп перед лікуванням відносний рівень CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів був достовірно нижчим, ніж у контролі, причому більш інтенсивне зниження рівнів вказаних субпопуляцій було відмічене саме у хворих, яким проводилося хірургічне лікування. Співвідношення апоптозу та некрозу лімфоцитів крові у хворих, яким було показано хірургічне втручання також помітно перевищувало дані показники у хворих, яким була показана консервативна терапія. При диференціації за динамікою співвідношення IFN- γ /IL-4 підгруп пацієнтів при збереженій загальній закономірності зниження рівнів CD3+ і CD4+-лімфоцитів більша інтенсивність таких змін відмічена у хворих із зниженим співвідношенням IFN- γ /IL-4, що супроводжувалося також більш високим рівнем співвідношення апоптоз/некроз. Проведене лікування, як хірургічне, так і консервативне, сприяло позитивній динаміці вказаних показників з наближенням їх до контрольного рівня, причому більш ефективно покращення показників було у пацієнтів з підвищенням співвідношення IFN- γ /IL-4 у процесі лікування.

Розділ 7 (4 сторінки тексту). У хворих на хронічний тонзиліт середня сума балів значно перевищує результати контрольної групи. Причому у хворих, яким було показано хірургічне лікування, таке перевищення сягало 9-10 разів, а у хворих, яким проводилося консервативне лікування воно було 7-8-кратне. При диференціації пацієнтів за співвідношенням IFN- γ /IL-4 було встановлено, що середня сума балів була вищою у хворих із зниженням даного співвідношення як до, так і після лікування у порівнянні з хворими у яких відмічалось зростання даного співвідношення.

Розділ “Аналіз та узагальнення результатів” (19 сторінок тексту). Розділ

написано об'єктивно, логічно і обґрунтовано, що свідчить про належну ерудицію, творчий підхід до виконання дослідження та наукову зрілість здобувача. Цей розділ повністю відображає положення, які сформульовані і обґрунтовані автором. В ньому автор не тільки підсумовує і аналізує одержані дані, але й порівнює їх з даними інших авторів.

Сім висновків і три практичних рекомендації дисертації М.І. Герасимюка відповідають меті і завданням дослідження, логічно випливають з результатів власних досліджень, об'єктивно аргументовані і мають важливе науково-практичне значення. За виключенням першого всі висновки є новими, перший висновок відносно новий.

Зауваження. Принципових зауважень до матеріалів дисертації немає. Поряд с цим не зовсім зрозуміло чому автор називає суспензію (або завись-укр.) клітин мигдаликів гомогенатом, що, як відомо, являє собою однорідну масу. Крім того, на мій погляд, не слід цитокіни розділяти на про- та антизапальні, оскільки вони відображають активацію різних Т-хелперів і спрямованість імунної відповіді.

Дискусійні питання.

1. Чи вважає автор, що всі зміни в субпопуляційному складі лімфоцитів крові обумовлені тільки впливом стану піднебінних мигдаликів?
2. Відомо, що мигдалики лімфаденоїдного глоткового кільця в більшій мірі контролюють стан місцевого імунітету. Виникає питання чому в оцінці підходу до вибору методу лікування не задіяні показники стану місцевого імунітету?

Висновок. Репрезентована дисертаційна робота Герасимюка Максима Ілліча «Оптимізація діагностики та вибору методу лікування хворих на хронічний тонзиліт шляхом визначення субпопуляційного складу лімфоцитів у крові та тканині мигдаликів», подана до офіційного захисту у спеціалізовану вчену раду Д 26.611.01 при ДУ «Інститут отоларингології ім.

проф. О.С. Коломійченка НАМН України» за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія містить теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання щодо покращення діагностики та тактики лікування хворих на хронічний тонзиліт шляхом визначення субпопуляційного складу лімфоцитів у крові і його співставлення з рівнем апоптозу і некрозу та динамікою зміни рівнів окремих цитокінів.

Дисертація є закінченою, самостійно виконаною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю, науковою новизною одержаних результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань» ДАК Міністерства освіти і науки України щодо кандидатських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567,а її автору Герасимюку Максиму Іллічу може бути присуджено ступінь кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія.

Офіційний оппонент -
завідувач лабораторією
патофізіології та імунології
ДУ «Інститут отоларингології
ім. проф. О.С. Коломійченка
НАМН України», доктор
медичних наук, професор _____ Мельников О. Ф.