

ВІДГУК
офіційного опонента на дисертацію Мельнікова Василя Володимировича
на тему: «Клініко-патогенетичне значення цитокінів та корекція їх рівня
при хірургічній інфекції у тварин» на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.05 – ветеринарна
хіургія.

Актуальність теми. Спільною патогенетичною основою більшості нозологічних форм хірургічної інфекції є запальна реакція, котра в різні періоди свого перебігу супроводжується зміною типів клітинних взаємодій, адекватність і біологічна доцільність яких, на всіх етапах регулюється міжклітинними взаємозв'язками опосередкованими через синтез різних медіаторів. Істотна роль у регуляції, ініціації та модуляції міжклітинних взаємодій в запальному осередку належить фізіологічним медіаторам, серед яких особливе місце посідають різні класи цитокінів.

Разом з тим клініко-патогенетичне значення цитокінів у ветеринарній медицині залишається маловідомим, а фармакологічна корекція їх рівня в організмі за різноманітних нозологічних форм захворювань у тварин не має свого клініко-експериментального обґрунтування.

За хірургічної інфекції виділяють дві основні групи цитокінів – прозапальні, та протизапальні. Дисбаланс між ними зумовлює неконтрольований перебіг хірургічної інфекції та призводить до низки різноманітних ускладнень, найбільш загрозливим серед яких є загальна хірургічна інфекція – сепсис. Поряд з цим цитокіновий дисбаланс зумовлює порушення динаміки перебігу процесів регенерації. Серед цитокінів ключовими вважаються інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин та протизапальний інтерлейкін-10.

Зважаючи на вищезазначене, вивчення клініко-патогенетичного значення цитокінів і реагентів гострої фази запального процесу за хірургічної інфекції у тварин різних видів є актуальним, оскільки дасть встановити нові клініко-патогенетичні критерії її перебігу та обґрунтувати фармакологічну корекцію.

У зв'язку з цим вибраний напрям наукових досліджень слід вважати актуальним.

Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної роботи кафедри хіургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету „Вивчення патогенетичних особливостей запально-регенеративних, дегенеративно-дистрофічних і непластичних процесів за хірургічної патології у тварин, розробка на цій

основі сучасних діагностичних та лікувально-профілактичних заходів” (№ держреєстрації 0109U003113). Дисертант виконував розділ „Вивчення клініко-патогенетичної ролі цитокінів за хірургічної інфекції у різних видів тварин”.

Робота відповідає профілю спеціалізованої вченої ради.

Метою роботи є обґрунтування клініко-патогенетичного значення цитокінів та фармакологічної корекції їх рівня за хірургічної інфекції у тварин різних видів.

Для досягнення мети перед дисертантом були поставлені наступні завдання:

1) визначити рівень цитокінів у крові клінічно здорових собак, свиней та корів;

2) дослідити взаємозв'язок рівня цитокінів, реактантів гострої фази і фібринолізу за різних клінічних форм хірургічної патології та залежно від мікробного чинника у тварин різних видів;

3) дослідити динаміку гематологічних показників, рівня цитокінів і реактантів гострої фази за гнійних ран у собак з урахуванням мікробного чинника;

4) дослідити динаміку гематологічних показників, рівня цитокінів і реактантів гострої фази у свиней після герніотомії;

5) клініко-експериментально обґрунтувати фармакологічну корекцію реакції гострої фази препаратом імуном-депо після герніотомії у свиней;

6) клініко-експериментально обґрунтувати фармакологічну корекцію реакції гострої фази препаратом тіотриазолін після герніотомії у свиней;

7) клініко-експериментально обґрунтувати фармакологічну корекцію препаратом імуном-депо реакції гострої фази за гнійних ран у собак;

8) клініко-експериментально обґрунтувати застосування препарату тіотризолін для оптимізації ранового процесу в собак.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність та новизна.

Проведені дисертантом протягом 2009-2020 років дослідження охоплюють широке коло питань, з'ясування яких дає вичерпні відповіді на визначені в меті завдання та дозволили розкрити поставлену мету наукової роботи.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у пріоритетному дослідженні клініко-патогенетичного значення цитокінів за хірургічної патології, їх патогенетичного зв'язку з реактантами гострої фази і гематологічними показниками у тварин різних видів.

Встановлено у клінічно здорових корів, свиней виразний протизапальний цитокіновий профіль.

Встановлено, що за гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів, зумовлених асоціаціями *F.necrophorum*, *E.coli*, *Clostridium spp.*, *Diplococcus*

lanc., стафіло- і стрептококами, формується флогогенна цитокінемія завдяки ФНП- α та ІЛ-1 β , некомпенсана збільшенням протизапального ІЛ-10, ступінь якої корелює з їх клінічними формами та супроводжується за гострого і рецидивуючого перебігу гіперфібриногенемією і недостатнім рівнем інгібіторів протеїназ.

Доведено, що адгезивно-запальний процес за гриж у свиней супроводжується помірною прозапальною цитокінемією ФНП- α та ІЛ-1 β із відповідним зменшенням протизапальних індексів, яка суттєво поглибується за гнійних артритів. За гриж черевної стінки ця цитокінемія зумовлює еритроцитопенію, тромбоцитоз, лейкоцитоз, які посилюються після герніотомії із формуванням стійкої гіперфібриногенемії та компенсаторним підвищением концентрації в крові інгібіторів протеїназ α 1-ІП та α 2-М. На підставі цього обґрунтовано парентеральне застосування імуном-депо і тіотриазоліну після герніотомії у свиней, що зменшує інтенсивність ранового запалення завдяки динамічному зниженню рівня флогогенної цитокінемії та сприяє скороченню терміну загоєння операційних ран у свиней у середньому в 1,6–1,7 раза.

Встановлено, що хіургічна патологія у собак супроводжується формуванням прозапальної цитокінемії різного ступеня, головним чином, завдяки ФНП- α , більш високого за нозологічних форм хіургічної інфекції, що не компенсується адекватним підвищением рівня ІЛ-10. Заразом встановлено надзвичайно високу резистентність виділеної ранової мікрофлори, особливо *Bacillus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Seratia spp.*, *Clostridium spp.*, *Streptococcus spp.*, до пеніцилінів, хінолінів, лінкозамінів і сульфаниламідів.

Доведено, що флогогенна цитокінемія зумовлює розвиток за хіургічної патології у собак різного ступеня еритроцитопенію, олігохромемію і лейкоцитоз, головним чином, за хіургічної інфекції, а найбільш суттєві зміни серед реактантів гострої фази виражуються у збільшенні концентрацій у сироватці крові церулоплазміну, яке чітко корелює з нозологічними формами патології. Заразом розвивається коагулопатія, що виражається у появі в плазмі крові розчинного фібрину в різних концентраціях і у зменшенні рівня активності тканинного активатора плазміногена, які мають клінічний корелятивний зв'язок.

Результати наукових досліджень здобувача мають суттєве практичне значення, які полягають у використанні клініко-діагностичних критеріїв рівня про- та протизапальних цитокінів, а також низких реактантів гострої фази для оцінки перебігу запально-регенеративного процесу за хіургічної патології у великої рогатої худоби, свиней та собак. Розроблено і апробовано

застосування імунотропного препарату імуном-депо і метаболітотропного тіотриазоліну для корекції рівня цитокінів і реакції гострої фази за різних видів ран у собак і свиней, що дозволяє скоротити терміни їх лікування.

Обсяг проведених дисертантом досліджень в стислій формі узагальнений у 11-ти висновках, кожен з яких відображає зміст окремого або декількох підрозділів.

Проведені дослідження підтвердженні необхідними документами, що подані в 2-х додатках.

Дисертаційна робота викладена на 161 сторінці комп'ютерного тексту, має всі відповідні розділи, ілюстрована 43 рисунками та 26 таблицями.

Список використаних джерел включає 408 найменувань, в тому числі 120 латиницею.

Огляд літератури займає 34 сторінки і складається із трьох підрозділів.

Основна частина огляду літератури присвячена поширенню хіургічної патології у тварин різних видів, молекулярно-біологічним і фізіологічним властивостям цитокінів, реагентів гострої фази, їх ролі у реалізації патогенетичних ефектів запальної реакції та методам фармакологічної корекції запального процесу.

Огляд літератури завершується коротким висновком, де підкреслено недостатньо визначену роль і клініко-патогенетичні критерії цитокінів у взаємозв'язку з інтенсивністю прояву реакції гострої фази та залежно від біологічних властивостей збудників хіургічної інфекції у тварин, встановлення яких дозволить оптимізувати вплив на механізми запальної реакції та покращити результати лікування..

Другий розділ «Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи виконання роботи», викладений на 13 сторінках комп'ютерного тексту. У ньому зазначено, що дослідження проведені протягом 11 років на базі кафедри хіургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету та сільськогосподарських підприємствах Київської області.

Дисертантом на достатній кількості тварин проведено 3-х етапні дослідження, в яких він вивчав рівні про і протизапальних цитокінів, білків гострої фази (ІЛ-1 β ;ІЛ-10;ФНП- α , а також гаптоглобін; церулоплазмін; Fg; компоненти фібринолізу; α 2-МГ; α 1-ІІІ.) і загальнопрофільних гематологічних показників у великої рогатої худоби, свиней і собак.

Надалі, на другому етапі досліджень визначалися рівні вище зазначених цитокінів, білків гострої фази, гематологічних, гемостазологічних, фібринолітичних, показників у тварин різних видів за різноманітних нозологічних форм хіургічної патології.

Із корів було сформовано три групи тварин з ортопедичною патологією: 1. Гостра; 2. Генералізована; 3. Рецидивуюча. В якості контрольної групи були клінічно здорові корови з фізіологічним станом 1–1,5 міс після отелу, яких досліджували на першому етапі досліджень.

Досліджуваних свиней розділили на 2 групи. До першої увійшли тварини з гнійними артритами суглобів, а другу сформовано із свиней з грижами.

Собак, які поступали на лікування у хірургічну клініку БНАУ в залежності від виду патології, розподілили на 6 груп: тварини з ранами; піометрою; абсцесами; піодермією; асцитом і відмороженнями.

На третьому етапі досліджень проводилося клініко-патогенетичне обґрунтування фармакологічної корекції рівня цитокінів і реакції гострої фази у собак з гнійними ранами і у свиней після герніотомії препаратами „Імуном-депо”, та „Тіотриазолін”.

Для підтвердження отриманих результатів автор використав клінічні, бактеріологічні, гематологічні (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити, лейкограма), гемостазологічні (фібриноген, розчинний фібрин, фібриноліз), біохімічні (гемоглобін, α_1 -інгібіторпротеїназ, α_2 -макроглобулін, церулоплазмін, гаптоглобін), імуноферментний аналіз (фактор некрозу пухлин- α , інтерлейкіни –IL-1 α , IL-1 β та IL-10), що дало підставу правильно інтерпретувати отримані результати.

У третьому розділі висвітлено результати досліджень цитокінових профілів у клінічно здорових корів, свиней і собак, а також проведено порівняння референтних величин показників у видовому аспекті. Встановлено, що потужний протизапальний цитокіновий профіль у жуйних і особливо у свиней є визначальним однією із їх видових особливостей запальної реакції – масивної фібринозної ексудації. Розділ викладений на 3 сторінках, містить 2 таблиці.

У четвертому розділі, що викладений на 42 сторінках, ілюстрований 15 таблицями, 24 рисунками, дисертантом проведено вивчення клініко-мікробіологічної характеристики гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів, визначено чутливість аеробних і анаеробних культур мікроорганізмів до 19-ти антибактеріальних препаратів, зміни рівня про і протизапальних цитокінів (IL-1 β ;IL-10;ФНП- α) та цитокінові індекси з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок. Встановлено, що гнійно-некротичні ураження кінцівок у корів, зумовлені ікробними асоціаціями характеризуються масовою прозапальною цитокінемією через підвищення в крові рівня ФНП- α за гострого перебігу в 5,6 раза, генералізованого – у 16,8, за хронічного – в 12,6 раза, а IL-1 β – в 3,4; 17,8 та 2,4 раза, відповідно, за недостатньо

компенсованого збільшення в 1,8 раза рівня протизапального ІЛ-10 чи його відсутності за рецидивів захворювання. Водночас за гострої та рецидивуючої форм існує гіперфібриногенемія з підвищеннем рівня фібриногену в плазмі крові в 1,3 і 1,4 раза, відповідно, та недостатній її інгібіторний потенціал, що призводить до неповноцінності біологічних бар'єрів.

Проведено клініко-патогенетичне обґрунтування ролі змін цитокінового профілю в розвитку хірургічної патології в свиней. Зокрема, у свиней-грижоносіїв адгезивно-запальний процес супроводжується помірною прозапальною цитокінемією із збільшенням у сироватці вмісту ФНП- α у 4,9 та ІЛ-1 β у 2,1 раза за відповідного зменшення протизапальних індексів у 19,4 та в 1,7 раза. Заразом за гнійних артритів її рівень поглибується, оскільки концентрація в крові ФНП- α збільшується у 18,3 раза, порівнюючи з клінічно здоровими тваринами, а індекс ІЛ-10: ФНП- α набуває критичного значення – 1,5:1.

Після герніотомії рановий процес супроводжується стійкою гіперфібриногенемією до 7-ї доби, збільшенням концентрації інгібіторів протеїназ – α 2 М у 1,8 раза та α 1-ІП в 1,5–1,6 раза.

На підставі аналізу даних клініко-лабораторних досліджень дисертантом відмічено, що у хірургічна патологія у собак супроводжується формуванням прозапальної цитокінемії різного ступеня, більш високого за нозологічних форм хірургічної інфекції. Уміст у сироватці крові ФНП- α , порівнюючи зі здоровими тваринами, збільшується за абсцесів у 79 разів, за гнійних ран – у 23 рази, за піометри – в 11,1, за піодермій, асциту і відморожень – у 5,7–5,8 раза. Заразом збільшення рівня ІЛ-10 виявляється недостатньо адекватним – в 1,3–2,2 раза. Реакція гострої фази у собак з хірургічною патологією характеризується найбільш суттєвими змінами концентрації церулоплазміну – збільшення за піометри – в 1,8 раза, за гнійних ран – в 1,6, за відморожень – в 1,5, піодермій – в 1,4, абсцесів – в 1,3 та за асциту – в 1,2 раза, а меншими гаптоглобіну – збільшення лише за гнійних ран і абсцесів у 1,2 раза.

Також здобувачем зазначено, що за хірургічної патології у собак набуває розвитку коагулопатія, яка характеризується появою в крові розчинного фібрину: за гнійних ран – $18\pm2,38$ мг%, абсцесів – $15,9\pm2,33$, піодермій – $14,1\pm4,13$, піометри – $12,9\pm1,45$ та відморожень – $10,6\pm3,45$ мг%. Хоча рівень фібриногену в плазмі крові збільшувався в 1,2–1,3 раза лише за гнійних ран, відморожень і піометри, це заразом однозначно свідчить про гіперкоагуляційний стан, індукований флогогенними цитокінами. Він ускладнюється пригніченням активності сумарного фібринолізу, особливо його тканинного активатора за різних нозологічних форм.

П'ятий розділ роботи викладений на 19 сторінках, ілюстрований 8 рисунками та 4 таблицями і присвячений корекції рівня цитокінів у собак з гнійними ранами.

З'ясовано, що гнійно-запальний процес у ранах собак зумовлюється мікробними асоціаціями, що проявляють високу частоту резистентності до пеніцилінів, хінолонів, лінкозамінів і сульфаніламідів

Автором з'ясовано, що застосування імуном-депо чи тіотриазоліну в комплексному лікуванні гнійних ран у собак, порівнюючи з використанням лише мазі левосин, скорочує терміни гнійно-некротичної стадії вдвічі, грануляції і епітелізації – в 1,8 – 1,9, а повного загоєння – в 1,4 раза. У разі застосування тіотриазоліну це відбувається через динамічне зменшення рівня флогогенних цитокінів і суттєве збільшення концентрації протизапального ІЛ-10 та церулоплазміна, а імуном-депо – урівноваження співвідношення між ІЛ-10 та прозапальними цитокінами.

В шостому розділі дисертації, що викладений на 20 сторінках та ілюстрований 7 рисунками та 4 таблицями, висвітлюються питання корекції рівня цитокінів у свиней після герніотомії. Дисертантом, у даному розділі, доведено, що застосування імуном-депо чи тіотриазоліна після герніотомії у свиней зменшує інтенсивність ранового запалення та сприяє прискоренню терміну загоєння операційних ран у середньому в 1,6–1,7 раза. Це супроводжується динамічним зменшенням рівня флогогенної цитокінемії під впливом тіотриазоліну чи урівноваження цитокінових профілів за дії імуном-депо, що зумовлює усунення еритроцитопенії на 7-му добу, тромбоцитозу – на 10-ту, лейкоцитарної реакції – на 3 і 7-му, відповідно, з формуванням у разі імуном-депо моноцитарної реакції – $4,3 \pm 0,52\%$, як свідчення його імуностимулюальної дії.

Сьомий розділ „Аналіз та узагальнення результатів досліджень” викладений на 35 сторінках. В ньому проведено всебічний аналіз і обговорення одержаних результатів досліджень з узгодженням їх із результатами та сучасними поглядами інших науковців.

На основі отриманих результатів досліджень сформульовано обґрунтовані й логічні висновки та пропозиції виробництву, що відповідають результатам власних досліджень.

Стислий зміст дисертаційної роботи відображені в авторефераті, зміст якого є ідентичним до основних положень дисертації.

Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Мельнікова В.В. як науково і логічно завершенну працю, в якій обґрунтовано вирішено поставлену мету і розкрито завдання, є необхідність звернути увагу здобувача на зауваження та отримати відповіді на питання, що виникли під час її рецензування.

- Чому для корекції цитокінового профілю за гнійних ран у собак та після герніотомії у свиней було обрано тіотриазолін та імуном-депо?
- Чим можна обґрунтувати ствердження про потужний протизапальний цитокіновий профіль у жуйних тварин?
- Чим не проводилися дослідження щодо корекції цитокінового профілю тіотриазоліном та імуном-депо за хірургічної інфекції у корів, а лише за гнійних ран у собак та після герніотомії у свиней?
- Зауваження до розділу „Аналіз та узагальнення результатів досліджень”, в якому зустрічається дублювання результатів власних досліджень наведених у попередніх розділах, у тому числі й цифрових даних, що ми вважаємо за недоцільне.

Відмічені зауваження і побажання не впливають на аргументованість і змістовність виконаних досліджень, не знижують наукової та практичної цінності роботи, а є завданням дисертанту для майбутньої роботи.

Повнота викладу в опублікованих працях наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації.

Основні положення дисертаційної роботи висвітлені в 6 наукових працях з яких 2 у виданнях, які входять до міжнародних наукометричних баз, 4 у вітчизняних фахових виданнях, а також 4 праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації, 1 у методичних рекомендаціях.

В опублікованих статтях у повному обсязі висвітлені результати власних досліджень. Наведені матеріали є підставою, стверджувати про достатню повноту викладених наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися і були схвалені на міжнародних, державних наукових і науково-практичних конференціях.

Результати досліджень використовуються в навчальному процесі у Національному університеті біоресурсів і природокористування, Білоцерківському національному аграрному університеті, Харківській державній зооветеринарній академії, Сумському національному аграрному університеті, Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Дніпровському державному аграрно-економічному університеті та Одеському державному аграрному університеті при вивчені дисципліни „Загальна та спеціальна ветеринарна хірургія” і в наукових дослідженнях.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Наведений аналіз обраної тематики дисертації, визначених мети і завдань, об'єкту і предмету досліджень, методів їх виконання, опрацьованої літератури,

оригінальність методик дослідження та логічний виклад наукового матеріалу, повнота його опублікування в фаховій літературі, апробація результатів дисертації на конференціях є свідченням високого ступеня обґрутованості проведених досліджень, аргументованості сформульованих висновків і пропозицій. Всебічний аналіз дисертаційної роботи є підставою стверджувати про наступне: дисертація Мельнікова Василя Володимировича «Клініко-патогенетичне значення цитокінів та корекція їх рівня при хірургічній інфекції у тварин», представляє собою завершену наукову працю, що за своєю новизною, актуальністю, якістю і обсягом виконаних досліджень, теоретичним значенням, практичній цінності, висновкам та реалізацією отриманих розробок заслуговує позитивної оцінки, повністю відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів» щодо кандидатських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 зі змінами, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.05 – ветеринарна хірургія.

09. 04. 2021

Офіційний опонент:

д. вет. н., професор кафедри акушерства та хірургії
Сумського національного
агарного університету

А.Й. Краєвський

