

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Пилипенко Наталії Олегівни на тему «Імунологічні та антиоксидантні зміни у осіб, які працюють в умовах дії пилу, що містить кварц», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за фахом 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

1. Актуальність теми. Актуальним є вивчення характеру впливу факторів середовища на адаптивні системи організму, що забезпечують гомеостаз, регенеративні функції і загальну резистентність під дією несприятливих чинників. Резистентність організму до факторів навколишнього середовища залежить від стану регуляторних систем організму, що підтримують гомеостаз.

Основною регуляторною системою, що забезпечує адаптацію до факторів довкілля, що змінюються, є єдина система, так званий імуні-нейроендокринний комплекс, який завдяки єдності медіаторних і рецепторних ланок забезпечує комунікативні зв'язки в організмі в цілому. Аферентні і еферентні ланки регуляторних систем забезпечують реактивність і резистентність організму до факторів середовища фізичної, хімічної та біологічної природи.

Як відомо, пил містить велику кількість дисперсних інкорпорованих шкідливих речовин, в тому числі радіоактивних, і основними шляхами проникнення шкідливих речовин в організм є слизові, шкірні покриви, органи зору, травлення і органи дихання. Зокрема, у людей, які працюють тривалий час у шкідливих умовах ливарного виробництва і їх регуляторні системи імуні-нейро-ендокринного комплексу зазнають поєданого впливу багатьох шкідливих фізичних і хімічних чинників, внаслідок чого можуть страждати фізіологічні функції, в першу чергу функція терморегуляції і газообміну. На тлі тривалого впливу несприятливих фізичних факторів на організм у цієї категорії осіб відбувається формування імуніопатологічних реакцій, і як наслідок порушення функцій гландулярної системи і органів дихання.

Імунофізіологічні реакції у відповідь на зовнішній вплив завжди носять індивідуальний характер, який залежить безпосередньо від віку, генетичної складової і тривалості контакту з негативними факторами. Порушення імунорезистентності можуть розвиватися за типом імунідефіцитних станів або алергічної і аутоімунної гіперактивності як гуморальної, так і клітинної ланок імунітету.

Формування порушень імунорезистентності, зокрема, тривале напруження бар'єрної функції киснезалежного фагоцитозу у відповідь на масивний антигенний груз у вигляді хімічних агентів і хронічної інфекції може призводити до активації оксидазної активності і подальшого накопичення вільних радикалів, що викликає інтенсивне переокислення. При порушенні адаптивних реакцій вільні радикали уловлюються стандартними антиоксидантними пастками і церулоплазміном, який забезпечує ферроксидазні реакції в еритроцитах. Відбувається порушення цілісності клітинних мембран еритроцитів і імунікомпетентних клітин.

Для з'ясування ієрархії порушень імуніфізіологічних реакцій серед контингенту осіб групи ризику, що працюють в ливарному виробництві та контактують з кварцовим пилом, в дисертаційній роботі Пилипенко Наталії Олегівни досліджувались імуніологічні маркери, які взаємопов'язані з порушеннями органів дихання.

2. Метою роботи було вивчення природного та адаптивного імунітету оксидантно-прооксидантних систем у осіб зі зміненою вентиляційною функцією легень, які працювали в умовах шкідливого виробництва та контактували з пилом, що містить кварц, що дозволить обґрунтувати індивідуальний підхід профілактики розвитку незворотних порушень імунорезистентності.

3. Структура дисертації. Дисертація побудована відповідно до нових вимог. Складається в чотирьох розділів. Загальний текст дисертації становить 156 сторінок, ілюстровано 20 таблицями та 11 рисунками. В роботі використано 204 літературних джерела.

4. Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Автор звертає увагу на сумісну роль первинного стану імунорезистентності груп ризику та негативної дії промислових аерозолів, на тлі яких у даного контингенту розвиваються порушення газообміну і значне підвищення частоти обструктивних захворювань легень.

Автор переконливо демонструє стадійність і поступовість розвитку перехідних форм порушення газообміну, аж до незворотних форм бронхіту на тлі формування порушень найбільш інформативних показників вродженого та адаптивного імунітету.

Справедливо автор вказує на незаперечну роль Т-кілерних клітин, які здійснюють імунний лізис пошкоджених клітин-мішеней. Але потім у розділі огляду літератури автор захоплюється описом функції антигенпрезентуючих клітин і їх рецепторів HLA, ролі цитокінів та інших факторів мікрооточення в диференціюванні клітин різних ланок імунітету, які не були предметом вивчення даної дисертаційної роботи.

Також автор розглядає роль Т-лімфоцитів аферентної ланки імунної системи, які забезпечують імунологічну пам'ять. Вдалим є опис факторів гальмування міграції лейкоцитів, які затримують системну запальну реакцію.

Опис усього різноманіття імунокомпетентних клітин і характеру їх функціональної активності представлено в огляді літератури без необхідного рубрикування єдиним текстом, що дещо ускладнює знайомство з текстом. Наприклад, опис опсонізуючої ролі імуноглобулінів і білків системи комплементу зустрічається по тексту неодноразово. Викладені автором результати дослідження представляють собою досить інформативні відомості про характер зміни гуморальних і клітинних реакцій імунітету, але в представленому огляді літератури недостатньо глибини опису ролі субпопуляцій лімфоцитів у формуванні імунологічної захисту.

У розділі, який стосується ролі антиоксидантного захисту і механізмів порушення імунітету, автор не приділяє уваги літературним джерелам, які свідчать про важливу роль посилення оксидантних реакцій в забезпеченні кисневого фагоцитозу, хоча приводить літературні джерела (Лебедева К.А., Понякіна И.Д., 2003) в яких наводяться дані про недостатність ефекторної ланки імунітету.

В огляді літератури автор розглядає спочатку клінічні симптоми (наприклад, деструкція респіраторних бронхіол) і тільки потім перераховує порушення Т-клітинної ланки імунітету, без розгляду механізмів цього процесу.

Значну увагу приділено опису ролі цитокінового дисбалансу і адгезивних молекул в розвитку запальних реакцій, що не були дисертантом досліджені. Автор описує роль С-реактивного білка як предиктора розвитку серцево-судинних захворювань, про роль інфекції. Розглядає кластери диференціювання лімфоцитів CD, які не були оцінені в роботі. Також згадується роль транскрибуючого фактору NF-κB, який регулює роботу імуноглобулінів. В огляді літератури присутні розділи, які не відображають номенклатуру власних досліджень. Виправданим є аналіз літератури, в яких доведено, що імунодефіцит у багатьох ланках імунорезистентності є основним механізмом прогресування захворювань легень. Пелипенко Н.О. наводить дані інших дослідників, які показують, що неспроможність факторів вродженого імунітету є тим фоном, на якому розвивається хронічна інфекція, з подальшими автоімунними порушеннями і патологічне ремоделювання дихальних шляхів може бути індивідуальною властивістю групи ризику.

Підкреслюється, що порушення можуть стосуватись різних морфологічних структур бронхів, їх моторики та секреторних залоз, і поступова гіпертрофія бронхіальних залоз змінюється на їх атрофію і склероз.

Для оцінки ризику розвитку змін вентиляції легень автором було застосовано метод покрокового дискримінантного аналізу, відповідно якого вираховували дискримінантний індекс для досліджуваних показників.

5. Методи дослідження.

В розділі матеріали та методи автор описує осіб, які знаходились в умовах підвищеної концентрації пилу і представила в переліку шкідливих чинників аерозолі CO_2 . Був зроблений розподіл обстежених за віком і класом шкідливостей.

В розділі «Методи дослідження» також відсутній розподіл на підрозділи: методи дослідження субпопуляцій лімфоцитів, імуноглобулінів, фагоцитозу, хемілюмінесценція, утворення продуктів перекисного окислення ліпідів - все описується суцільним текстом на 6 сторінках. Наприкінці, в якості висновків до розділу 2, автором представлена структура обстеженої вибірки контингенту ризику и перелік видів імунологічних досліджень, які є достатньо сучасними і інформативними.

6. Достовірність основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Розділ 3 «Обговорення результатів дослідження» присвячено дослідженню імунологічних показників у осіб, які працюють в умовах дії пилу, що містить кварц, оксид заліза, магній та нікель, і в повітрі робочої зони присутній оксид кремнію (SiO_2). На початку автор приводить динаміку зміни показників киснезалежного та кисенезалежного фагоцитозу.

Автор стверджує, що антигенне навантаження у осіб з великим стажем роботи викликає зміни фагоцитарної активності, які пов'язані з розвитком порушень вентиляції легень. При вивченні НСТ-тесту автором виявлена активація киснепродукуючих процесів і активація білків комплементу у осіб з альвеолярним типом порушень функції легень. У розділі «Результати дослідження показників імунітету у осіб, що працюють в умовах дії пилу, що містить кварц» було показано, що відбувається активація CD3^+ -субпопуляції загальних Т-лімфоцитів та CD16^+ -кілерів. Субпопуляція CD22^+ була зменшена відносно контрольної групи. Імунорегуляторний коефіцієнт ІРІ залишався в усіх групах на рівні контролю. Автор справедливо досліджувала не лише кількісне співвідношення субпопуляцій, а також функціональну активність імунних клітин, а саме відповідь на мітоген ФГА. Відповідь на мітоген була знижена у всіх досліджуваних групах. Автором доведено, що клітинний імунітет в обстежуваних групах змінюється залежно від стажу роботи в шкідливих умовах, а це в свою чергу може посилювати патологічний стан вентиляції легень, а не навпаки.

Автором показано, що такий інформативний показник, як фактор гальмування міграції лімфоцитів, що характеризує функціональну медіаторну активність лімфоцитів був суттєво знижений у осіб всіх груп. Дисбаланс класів імуноглобулінів взаємопов'язаний з тривалістю стажу. Автор стверджує, що при нетривалому контакті з чинниками В-система ефективно запобігає розвитку автоімунних процесів. На мою думку, цікавим є дослідження утворення антитіл до нативної та денатурованої ДНК, та компоненту позаклітинного матриксу – колагену, який пропорційний стажу роботи в шкідливих умовах.

Наявність певних автоантитіл, зміни рівня імуноглобулінів передбачає збільшення утворення циркулюючих імунних комплексів. Але автором переконливо доведено, що у всіх стажових групах концентрація ЦК зберігалася на рівні контролю, автор вважає що це є наслідком зниження активності формування імунних комплексів – антиген-антитіло-комплемент. При цьому автор стверджує, що підвищення концентрації ЦК в групі з альвеолярними порушеннями вірогідно відхилялось від контрольних значень.

Також автор вивчала накопичення продуктів ПОЛ, стан еритроцитарних мембран, хемілюмінесценцію і виявила характерну динаміку зростання негативних порушень показників.

Автор вказує на перелік публікацій, в яких відображені результати цих досліджень.

В розділі 4 на 20 сторінках представлено детальний аналіз значимих змін показників, які вивчались, в якості яких обрані показники НСТ-тесту при альвеолярному типі порушень, завершеність кисненезалежного фагоцитозу при бронхіальному типі порушень, зростання ААТ до дДНК і підвищення концентрації ЦК при альвеолярному порушенні газообміну.

Переконливо продемонстрована роль підвищення кількості субпопуляцій клітин, що експресують CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD22⁺ при альвеолярному типі порушень і значне підвищення IgM и ААТ до дДНК при бронхіальному типі порушень.

У осіб з порушеннями вентиляції бронхо-легеневої системи виявили структурні порушення еритроцитарних мембран.

Висновки відповідають поставленим завданням і впливають з отриманих результатів дослідження.

7. Новизна основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в тому, що дисертант виявила зміну співвідношення між субпопуляціями хелперних (CD4⁺) та супресорних/кілерних (CD8⁺) субпопуляцій Т-лімфоцитів, підвищенні імуноглобуліну М в 1,5 рази, активацію оксидантних реакцій та спонтанної хемілюмінесценції, зміни еритроцитарних мембран у осіб, які тривай час працюють в умовах запылення повітря кварцем.

Індивідуальний характер змін метаболізму у осіб під впливом пилу проявлявся активацією оксидантних реакцій, збільшенням хемілюмінесценції і накопиченням продуктів окислення ліпідів, що супроводжувалися зміною функції бронхів.

У висновках автор підкреслює значення моніторингу показників вродженого і адаптивного імунітету у комплексі з показниками оксидантної та прооксидантної систем для оцінки появи незворотних процесів і органах дихання. Переконливо доказує, що шкідливі абіотичні фактори значно порушують показники адаптивного гуморального та клітинного імунітету, що в якості маркеру альвеолярних змін легень може бути застосовано показних спонтанної хемілюмінесценції і гемолізу еритроцитів.

8. Практичне значення одержаних результатів. Таким чином, проведені дослідження тривалого впливу інкорпорованих чинників, що містять пил, змінюють цілий ряд ланок імунорезистентності, оксидантно-прооксидантної системи, що сприяє розвитку змін вентиляції легень різної локалізації та тяжкості у осіб, які тривалий час працюють в шкідливих умовах. Підходи та методи дослідження можуть бути використані для моніторингу здоров'я осіб, які працюють в шкідливих умовах. Отримані дані можуть бути основою для створення діагностичного протоколу, який буде містити значущі імунологічні та метаболічні маркери для оцінки ступеня ендогенної інтоксикації та порушення реактивності бронхо-легеневої системи на початку формування зворотних змін.

Що стосується питань, які виникли при знайомстві з дисертаційною роботою, то вони головним чином відносяться не до отриманих фактичних результатів, а до інтерпретації отриманих даних.

1. Опис усього різноманіття імунокомпетентних клітин і характер їх функціональної активності представлено в огляді літератури без необхідного рубрикування єдиним текстом, що дещо ускладнює знайомство з текстом. Наприклад, описання опсонізуючої ролі імуноглобулінів и білків системи комплементу зустрічається по тексту неодноразово.

2. В останньому розділі, який представляє собою «аналіз результатів» автор дисертації справедливо вказує на поліфункціональність імунної системи, але не приділяє належної уваги характеристиці значущості імунних параметрів і розгляду феноменології конкретних фізіологічних структурних змін, а розглядає більш детально структуру кінцевих клінічних діагнозів, які сформувалися у працюючих осіб під дією шкідливих фактів.

3. Характеристики специфічних порушень бронхіальних і альвеолярних типів змін, опису яких автор приділяє досить багато уваги, не підтверджені будь-якою гістологічною,

