

О Т З Ы В

официального оппонента доктора медицинских наук Литвиненко Галины Ивановны на диссертацию Волковой Марии Сергеевны «Лимфатический регион молочной железы в норме, при индуцированной опухоли, химиотерапии и фитокоррекции», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.01 - анатомия человека, 03.03.04-клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность исследования. Диссертация Марии Сергеевны Волковой посвящена актуальной проблеме современной медицины – гистологическому изучению лимфатического региона молочной железы в норме, при экспериментальной опухоли молочной железы, индуцированной N-метил-N-нитрозомочевинной, у крыс-самок Wistar на фоне неоадьювантной полихимиотерапии, фитокоррекции и их комбинации. Использовалась экологически обусловленная модель канцерогенеза химическими веществами, ответственными за возникновение до 80–90 % опухолей человека. Заслуженный интерес работа Марии Сергеевны представляет ещё и потому, что нитрозосоединения и нитрамины – химические бластомогены (канцерогены) прямого канцерогенного действия (N-метилнитрозоуретан, метилнитрозомочевина, N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин) используются при производстве лако-красящих материалов, медикаментов, полимеров, антиоксидантов, растворителей, антикоррозионных средств.

Известно, что изменения морфологии и функционирования лимфатических узлов отражает влияние окружающей среды на лимфатическую систему. Морфофункциональное состояние «сторожевых» аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при онкологической патологии, в том числе и при раке молочной железы, до настоящего времени, является прогностическим критерием.

Вместе с тем в литературе крайне скудны сведения о состоянии лимфатической системы, а именно о изменении структуры и транспортной функции аксиллярных лимфоузлов 1-го порядка, а также о изменении в кровеносном и лимфатическом русле молочных желез при раке молочной железы, в том числе и при раке молочной железы, индуцированном канцерогенами.

Применение лекарственных веществ, в том числе и нетоксических антиканцерогенных фитосборов, в группах повышенного онкологического риска является перспективным направлением в химиопрофилактике онкологической патологии.

Исходя из этого актуальность диссертационной работы Марии Сергеевны, посвященной исследованию лимфатического региона молочной железы в норме и при индуцированной опухоли, гистологическому обоснованию использования современных схем лечения химио- и фитопрепаратами, не вызывает сомнения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна. Научные положения и выводы диссертации Марии Сергеевны основаны на достаточном для решения поставленных задач объеме материала. Для морфологического исследования выбраны: молочная железа - интактная, опухоль молочной железы, аксиллярный регионарный лимфатический узел.

Диссертация Марии Сергеевны Волковой написана на высоком методическом и концептуальном уровне. В рукописи чётко и корректно сформулирована **цель исследования**, для достижения которой **поставлены и решены задачи** (всего их 4).

Оценка новизны, достоверность и ценность полученных автором результатов. Принципиальной новизной исследования Марии Сергеевны явилось сравнительное исследование структурной организации регионарных

лимфатических узлов, молочной железы крыс при индуцированной аденокарциноме, на фоне введения химио- и фитопрепаратов.

Результаты исследования Марии Сергеевны являются **значимыми для медицинской науки, исследовательской и клинической практики.** Получены новые знания, расширяющие современные представления о структуре аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы, морфофункциональной организации гемо- и лимфоциркуляторного русла в опухоли молочной железы, по сравнению с нормой.

Морфологические данные, полученные в результате работы, отражают необходимость дальнейшего изучения возможности внедрения такой комбинации цитостатиков с фитосбором в практическое здравоохранение.

Результаты диссертационной работы Марии Сергеевны Волковой представляют интерес для клеточной биологии, цитологии, гистологии и могут быть включены в лекционные курсы соответствующих дисциплин в медицинских высших учебных заведениях.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность. Рукопись Волковой Марии Сергеевны написана традиционно и включает в себя введение и 7 глав (обзор литературы, главы описаний материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждения, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы). Текст диссертации изложен на 143 страницах, содержит 24 рисунка: из них 19 фотографий гистологических препаратов, 5- диаграмм и графиков, количественные морфометрические данные представлены в 4 таблицах и список литературы, включающий 266 ссылок (196 отечественных и 70 иностранных).

В «Введении» поставленные задачи соответствуют цели исследования.

«Обзор литературы» (Глава 1) занимает 17 страниц текста, где достаточно полно приведены и проанализированы данные по исследуемой

проблеме: лимфатический регион молочной железы в норме, при опухолях, химиотерапии и фитокоррекции.

Далее следует Глава 2 «Материалы и методы исследований», в которой подробно описанные объекты и методы исследований были выбраны адекватно целям и задачам исследования. Работа выполнена на достаточном объеме материала и хорошем методическом уровне.

Положительно характеризует работу наличие дополнительной группы интактных животных получавших фитокомплекс в той же дозе что и животные опытных групп - 10мг/100г массы тела животного в течение 15 дней. При этом не выявлено интоксикации, нарушений в поведении животных, в строение лимфатических узлов по сравнению с контрольной группой.

В последующих пяти главах на сорока одной странице Мария Сергеевна излагает основные результаты, полученные в ходе исследования.

Несмотря на некоторые незначительные технические погрешности полученные результаты исследования расширяют современные представления о структуре аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы, морфофункциональной организации гемо- и лимфоциркуляторного русла в опухоли молочной железы, по сравнению с нормой. Результаты исследования логично и последовательно анализируются в «Обсуждении полученных результатов». В диссертации имеется 6 выводов. В целом они отвечают тем положениям, которые вынесены на защиту и соответствуют поставленным задачам.

На мой взгляд, наиболее **существенным результатом** работы является следующее:

1. Получение автором убедительных гистологических данных о преобладание площади кровеносных сосудов в молочной железе над площадью лимфатических сосудов в норме.

2. При опухоли молочной железы у крыс-самок Wistar увеличивается количество кровеносных и лимфатических сосудов по сравнению с нормой. На фоне развития опухоли молочной железы в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка структурные изменения свидетельствуют о нарушении транспорта лимфы и противоопухолевого иммунного ответа, о активации микроциркуляции в тканях.

3. Несмотря на то, что опухолевые клетки зарегистрированы в аксиллярных лимфатических узлах независимо от вида терапевтического воздействия (Таблица 3), эффективность применения фитокомплекса в комбинированной терапии опухоли молочной железы, индуцированной N-метил-N-нитрозомочевинной, не вызывает сомнений.

При сравнительном гистологическом исследовании лимфатических узлов при неоадьювантной полихимиотерапии опухоли молочной железы и при комбинации фитокомплекса и неоадьювантной полихимиотерапии при опухоли молочной железы установлено, что неоадьювантная полихимиотерапия приводит к развитию нарушений в структуре лимфатических узлов, подавляется транспортная и лимфопоэтическая функции, уменьшается количество опухолевых клеток в лимфатических узлах, наблюдается деструкция опухоли.

Комбинация фитокомплекса и неоадьювантной полихимиотерапии при опухоли молочной железы приводит к выраженной деструкции опухоли, по сравнению с группой без фитокоррекции, и сопровождается структурными преобразованиями в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка, свидетельствующих о лимфокоррегирующем действии фитокомплекса, активации клеточных эффекторов противоопухолевой резистентности, замедлении лимфотока и активации бласттрансформации и фагоцитоза, уменьшается количество атипичных клеток в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка по сравнению с группой животных с ОМЖ, без лекарственного воздействия.

4. При профилактическом 6-ти месячном назначении фитокомплекса, сразу после подкожного введения в область молочной железы канцерогена, отмечены выраженные, чем при химиотерапии структурные признаки активации клеточного звена иммунитета (площадь тимусзависимой зоны увеличена до значений интактной группой) и уменьшение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами, а также уменьшение транспортного потенциала лимфатического узла (уменьшалась площадь мозговых и краевого синусов).

Личное участие автора в получении результатов диссертации подтверждается списком публикаций и результатами апробаций на международных, междугородних научных конференциях различного уровня. Основные результаты диссертации опубликованы в 12 научных трудах, из них 3 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых для публикации основных результатов исследования. Таким образом, достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, сомнений не вызывают.

Работа, выполненная на высоком современном теоретическом и методическом уровне, несомненно, представляет ценность для науки и практики. В частности, выявленные данные о структурных преобразованиях в регионарных лимфатических узлах в норме и при индуцированной опухоли молочной железы, химио- и фитотерапии, будут полезны для гистологов.

Автореферат соответствует требованиям, предъявляемым к его написанию, он в полной мере соответствует и отражает содержание диссертации.

Замечания. Имеются небольшие технические погрешности в тексте диссертации и в автореферате, которые не снижают значимости полученных автором результатов.

Вопросы.

1. На стр. 31 Главы 2 «Материалы и методы исследований» указано: «Общая частота возникновения опухолей во всех группах с лечением составила порядка 65%». У какого количества животных в каждой группе развились опухоли молочных желез? При каком виде лечения меньше стало заболевших?

2. На стр. 31 Главы 2 «Материалов и методов исследования» написано: «Пятикратное подкожное введение N-метил-N-нитрозомочевины инициировало развитие опухоли молочной железы у животных, как в контрольной группе, так и в группах с лечением. Опухоль молочной железы развились у 90,5% крыс в опытных группах». Как Вы считаете, почему у 9,5% животных не удалось канцерогеном индуцировать опухолевый процесс?

3. На стр. 34. Главы 2 «Материалов и методов исследования»: «В состав фитокомплекса (биологически активная добавка к пище, свидетельство о государственной регистрации № 77.99.23.3.У.7134.7.09 от 27.07.2009 г.) входят пищевые волокна (ржанные отруби), корень солодки, трава череды, морская капуста (ламинария), березовый гриб, трава зверобоя, цветки календулы». Не указан производитель фитокомплекса. Не уточнено в какой лекарственной форме животным вводили с пищей препарат (в виде травы, гранул или др.), сколько раз в сутки. Как контролировалось количество препарата, полученное каждым животное за сутки? В работе указано лишь: 100мг/100 г массы тела.

4. В Главе 2 «Материалы и методы исследования», в подразделе этой главы 2.4.2 «Исследование кровотока в молочной железе и опухоли молочной железы у экспериментальных животных» при описании исследования кровотока с помощью лазерной доплеровской флоуметрии не уточнено на какой день эксперимента проведено исследование.

5. При описании гистологических исследований относительных размеров структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов (Таблица 2, стр. 53), клеточного состава структурно-функциональных зон аксиллярного лимфатического узла (Таблица 3, стр. 54-56), при исследовании кровотока в молочной железе методом лазерной доплеровской флоуметрии (Таблица 4, стр. 70) обращает на себя внимание отсутствие достоверных различий между группами животных, получавших различное лечение: опухоль молочной железы + химиотерапия, опухоль молочной железы + химиотерапия + фитотерапия, опухоль молочной железы + фитотерапия, достоверных различий нет или не было целью их сравнивать? Достоверность зарегистрирована между группами интактных крыс, крыс с нелечеными опухолями по сравнению с группами, получавшими медикаментозную терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Марии Сергеевны Волковой «Лимфатический регион молочной железы в норме, при индуцированной опухоли, химиотерапии и фитокоррекции», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, по специальностям: 14.03.01- анатомия человека и 03.03.04-клеточная биология, цитология, гистология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи изучения морфофункциональных изменений в регионарном лимфатическом русле при формировании опухоли молочной железы, в условиях химио- и фитотерапии, имеющей существенное значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии.

Диссертация выполнена самостоятельно с применением классических и современных методик, по актуальности, степени новизны, теоретической и практической значимости работа в полной мере соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям п. 9 «Положения о

присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013), а ее автор М.С. Волкова заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.01 – анатомия человека, 03.03.04- клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (03.03.04-клеточная

биология, цитология, гистология;

13.14.09-клиническая иммунология, аллергология),

Ведущий научный сотрудник лаборатории хронофизиологии ФАНО ФГБНУ Научно-исследовательского

института физиологии и фундаментальной

медицины СО РАМН..........Литвиненко Г.И.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» (НИИИФФМ)

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д.4

Телефон (383) 335-98-55; E-mail: iph@physiol.ru

Число 30.03.2015 г.



Подпись  20.
Исполнитель ОК 