

## ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертационной работе  
Ткаченко Лии Викторовны «Морфофункциональная характеристика лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфатических узлов кроликов в норме и эксперименте»,  
представленной на соискание учёной степени  
доктора биологических наук по специальности 06.02.01. – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

**Актуальность работы.** Комплексное изучение органов лимфатической системы представляет большой научно-практический интерес в связи с их уникальными функциями, реализуемыми как при поддержании гомеостаза организма, так и в ходе защитно-компенсаторных реакций, в том числе при иммуно- и онкогенезе. Несмотря на имеющиеся обстоятельные сведения в области клинической лимфологии, данные об анатомическом составе лимфатической системы, особенностях макро- и микроскопической организации её составляющих у млекопитающих фрагментарны и порой противоречивы. Более того, требуют совершенствования и углубления знания о регионарных характеристиках лимфообращения, корреляциях между морфологическими показателями и картиной, полученной при использовании МРТ-диагностики в норме и при патологии, поскольку они являются базовыми для расшифровки этиологии и патогенеза заболеваний различной природы. В этой связи тема диссертационной работы Л.В. Ткаченко имеет несомненную актуальность. При этом автором для проведения исследований логично избран кролик как один из популярных экспериментальных объектов. Предметом изучения явилась лимфатическая система лёгких и их регионарных лимфатических узлов, что вполне обосновано в связи с распространённостью бронхолёгочных заболеваний у животных, а также частотой метастазирования в лёгкие при опухолевых процессах.

Цель и задачи, которые ставит перед собой автор, направлены на изучение морфофункциональных характеристик экстра- и интраорганного компонентов лимфатической системы лёгких у взрослого кролика.

Замечание: название работы не вполне соответствует масштабу докторской диссертации, оно свидетельствует о решении конкретной задачи. Целесообразно

было бы подобрать более фундаментальную формулировку, например, «Методология изучения морфофункциональных характеристик органов лимфатической системы лёгких и регионарных лимфоузлов у кролика в норме и эксперименте» или «Алгоритм оценки морфофункционального состояния лимфатической системы лёгких».

**Содержание работы.** Диссертационная работа написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы и собственных исследований с описанием материала и методов исследования, результатов исследования и обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 277 отечественных и 42 иностранных источника, а также списка сокращений и условных обозначений. Общий объем работы 292 страницы машинописного текста. Иллюстративный материал включает 59 рисунков и 32 таблицы.

Обзор литературы соответствует стоящим перед исследователем задачам и весьма убедительно демонстрирует дефицит научной информации по изучаемой проблеме.

В работе проанализирован материал, полученный от 56 кроликов породы Белый великан (30 самцов и 26 самок) содержащихся в условиях вивария Алтайского ГМУ.

Автором использован комплексный методический подход, включающий анатомическое препарирование и описание, инъекции лимфатических сосудов смесью Герота и авторской смесью ТМК, гистологические исследования просветлённых препаратов, патологоанатомическое вскрытие и описание, макро- и микроскопическую морфометрию. Кроме того, автор применяет метод магнитно-резонансной томографии. При этом диссертант успешно использует авторские приспособления и методики, оригинальность и новизна которых подтверждена патентами.

В III главе представлены данные собственных исследований, многие из которых отличаются оригинальностью и новизной. Выводы соответствуют поставленным задачам.

Результаты научного исследования Л.В. Ткаченко представлены в достаточном количестве публикаций. Так, по материалам диссертации опубликовано 32 научные работы, из них 14 статей в изданиях, рекомендованных в списке ВАК РФ, 4 патента, 2 монографии.

**Научная новизна работы** состоит в том, что на основании проведённых исследований автором получены новые данные о структурной организации лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов у кролика. Выявлены корреляции между анатомической и МРТ картиной изучаемых структур. Разработана методика витального изучения и оценки лимфотока в разных звеньях лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов у кроликов, полученные при аэрозольном введении микрочастиц.

**Теоретическая значимость работы.** Полученные данные вносят дополнения в представления о структурной организации и функционировании лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов, что существенно обогащает теоретическую базу лимфологии.

**Практическая значимость работы.** Выявленные корреляции между анатомической и МРТ картиной изучаемых структур могут быть использованы в научной работе НИИ, фундаментальных и клинических кафедр при изучении и моделировании патологических процессов в органах грудной полости. Методика витального изучения и оценки лимфотока в разных звеньях лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов у кроликов может быть успешно внедрена при проведении аналогичных исследований.

Материалы исследования внедрены в учебный процесс и в практическую деятельность лабораторий, что подтверждено соответствующими документами.

**Степень обоснованности, достоверность и новизна научных положений, выводов, рекомендаций.** В III главе диссертации представлены оригинальные данные о структурной организации лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов. Подробнейшим образом охарактеризованы звенья лимфатического русла органа, описаны интра- и экстраорганные лимфатические узлы, уточнена их топография, представлены анатомические варианты нормы. Особенно

ценно параллельное изучение объектов анатомическими методами и методом МРТ с выявлением анатомо-клинических корреляций, что имеет важное значение для экспериментально-клинических исследований. Отличаются новизной данные о прижизненном лимфотоке в разных звеньях лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов у кролика, полученные при аэрозольном введении микрочастиц порошкообразного индикатора. На основании этого фрагмента исследований автором разработаны критерии прижизненной оценки лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфоузлов. Полученные макроскопические данные документально подтверждаются высококачественными макрофотографиями и томографическими снимками, а также статистической обработкой полученных цифровых значений. Отдельные авторские рисунки и микрофотографии по своей технике исполнения и выразительности заслуживают самой высокой оценки и могут быть включены в учебники, учебные пособия для студентов зооветеринарных вузов.

В этой связи результаты макроскопического исследования, содержащиеся в диссертации и полученные автором, являются научно обоснованными и репрезентативными.

Микроскопические исследования в работе проведены на просветлённых макро-микротрепаратах после наливки лимфатических сосудов. При этом получены количественные данные о диаметре лимфососудов, о локализации порошкообразного индикатора в сосудах гемо- и лимфоциркуляторного русла. Вместе с тем, препараты, окрашенные азуром II и гематоксилином и эозином (эти методы заявлены в работе), почему-то представлены лишь единичными и фотоснимками недостаточно хорошего качества, что ухудшает восприятие иллюстративного материала.

В этой связи анализ микрофотографий, на наш взгляд, не позволяет сделать автору объективные научно обоснованные заключения. Так, автор считает, что

предлагаемая масса ТМК может использоваться в качестве гистологического красителя, так как позволяет окрашивать ядра клеток и идентифицировать их, ссылаясь при этом на рисунок 55. Глядя на этот рисунок, невозможно согласиться с автором: аннотированная гистологическая картина не подтверждается цитоморфологически. Серьёзным, но не подтверждённым, является заявление о возможности идентификации групп лёгочных макрофагов на просветлённых неокрашенных срезах (рис.41). На представленной микрофотографии невозможно идентифицировать обозначенные в подрисуночной подписи структуры.

Вызывает сомнение явление, описанное под названием «эндоцитоз Малофеева-Коновалова». На приведённых автором микрофотографиях отсутствует доказательная база его существования. Во-первых, препараты не читаются, так как срезы толсты и не окрашены, в связи с чем цитоморфологическая идентификация не представляется возможной. Во-вторых, очевидно, что по представленным препаратам исключается возможность дифференцировать прижизненные и посмертные изменения в клетках. Описываемые вакуоли в макрофагах обычно являются следствием не посмертного эндоцитоза, как считает автор, а посмертного аутолиза, что характерно для клеток, богатых лизосомами (Саркисов Д.С.,1995). В-третьих, подтверждение подобного явления может быть получено только на основании электронно-микроскопических исследований, которые в работе не применялись. Неясно, почему наряду с изготовлением просветлённых препаратов автор пренебрёг классической гистологией, которая могла бы внести большую определённость в описание изучаемых структур.

Таким образом, доказательная база микроскопических исследований не может считаться полностью информативной. Толстые срезы и неокрашенные препараты позволяют идентифицировать лишь контуры лимфатических сосудов, более тонкие аннотированные структуры, к сожалению, не определяются. В этой связи результаты микроскопических исследований можно признать достоверными лишь частично.

Выводы соответствуют поставленным задачам. Однако среди них научно обоснованными могут считаться те, которые вытекают из результатов макроскопических исследований. Многие выводы недопустимо громоздки, пестрят фактическим материалом (2,5,7,10). Вывод 11 нельзя считать корректным.

Результаты собственных исследований получены, обработаны и обсуждены докторантом лично.

Объём материала достаточен. К комплексу методов целесообразно было бы добавить трансмиссионную электронную микроскопию. Результаты макроскопических исследований репрезентативны и статистически обработаны, что подтверждает достоверность полученных данных. Результаты микроскопических исследований можно признать достоверными лишь частично.

Диссертационная работа Л.В. Ткаченко соответствует критериям «Положения о присуждении учёных степеней». Автореферат отражает основные положения работы. Его структура и содержание отвечают требованиям ВАК.

При изучении диссертации возникли следующие замечания.

1. В качестве итога докторской диссертации хотелось бы видеть обобщение, свидетельствующее о создании методической базы для проведения дальнейших исследований в сфере лимфологии, а также алгоритма изучения регионарных структурно-функциональных характеристик органов лимфатической системы. В работе имеются предпосылки для таких обобщений, но они, к сожалению, не сформулированы.
2. Текст диссертации содержит множество орфографических и стилистических ошибок и погрешностей, во многих местах изобилует фактическим материалом при отсутствии чётких обобщений.
3. Подписи ко многим рисункам некорректны (например, рис.11, рис.12, рис.16, рис.18).
4. Качество микроскопических иллюстраций низкое, срезы толстые и неокрашенные, признаки аннотированных явлений и структур на них определяются с трудом (например, рис.35,36,37,39,40,41,50,52,53).

6. На основании представленных материалов нельзя считать обоснованным возможность использования массы ТМК как гистологического красителя.

7. Если автор хотел доказать наличие явления «эндоцитоза Малофеева-Коновалова», то ему следовало бы пользоваться методом трансмиссионной электронной микроскопии и учитывать процессы аутолиза при интерпретации данных.

8. При интерпретации гистологической картины чувствуется недостаток микроморфологической информации, полученной методом классической гистологии. От этого качество работы, достоверность данных снижаются, а интерпретация и восприятие материала ухудшается.

9. Не выдерживает критики объяснение лучшего проникновения в ткани массы ТМК по сравнению со смесью Герота (с.184).

При оппонировании диссертации, кроме того, возникли вопросы.

1. Какова основная концепция Вашей работы?

2. Может ли разработанная методика витальной оценки быть использована при изучении особенностей регионарной конструкции лимфатической системы других органов, например, печени, кишечника, желудка и др.?

3. Какие практические рекомендации могут быть даны на основании выявленных Вами корреляций анатомической и МРТ картины?

4. На основании каких признаков на неокрашенных препаратах вы дифференцировали прижизненные изменения от посмертных?

5. Каким образом на неокрашенных препаратах идентифицировали макрофаги? Присутствовали ли гигантские многоядерные клетки и как вы определяли их отсутствие или наличие?

6. Что Вы понимаете под прижизненным и посмертным фагоцитозом?

7. Не связано ли появление вакуолей с посмертным аутолизом, а не с эндоцитозом? Как вы дифференцировали изменения?

8. На основании каких данных Вы считаете возможность замены гистокрасителей смесью ТМК?

9. Каким образом, согласно Вашим рекомендациям, может использоваться в практике судебной экспертизы «эндоцитоз Малофеева-Коновалова»?

**Заключение.** Диссертация Л.В. Ткаченко «Морфо-функциональная характеристика лимфатической системы лёгких и их регионарных лимфатических узлов кроликов в норме и эксперименте», выполненная при консультативной поддержке д.в.н., профессора Малофеева Ю.М., представляет собой самостоятельную завершённую научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области экспериментальной и ветеринарной лимфологии и соответствует п.9 «Положений о порядке присуждения учёных степеней» ВАК РФ. Автор Л.В. Ткаченко заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 06.02.01. – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

Зав. кафедрой анатомии и гистологии  
им. А.Ф. Климова  
ФГБОУ ВПО МГАВМиБ,  
заслуженный деятель науки РФ,  
доктор биологических наук, профессор

Наталья Анатольевна Слесаренко

Адрес: 109472 г. Москва, ул. Академика Скрыбина, 23  
Тел. 8(495)377-71-19, 8(495)377-85-69  
E-mail: slesarenko2009@yandex.ru

Подпись

завещаю Начальник административного отдела

" 28 "

08/

2014

