

## **В І Д Г У К**

**офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, завідувача  
кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії**

**Буковинського державного медичного університету МОЗ України**

**Слободяна Олександра Миколайовича**

**на дисертаційну роботу Гриня Володимира Григоровича**

**«Морфофункціональні особливості шлунково-кишкового тракту білих**

**щурів у нормі та при впливі кларитроміцину», подану до**

**спеціалізованої вченої ради Д 64.600.03 Харківського національного**

**медичного університету МОЗ України на здобуття наукового ступеня**

**доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія**

### **1. Актуальність обраної теми дисертації**

Найбільш порівняним відділом за гомологією з відділом травної системи людини є тонка кишка, у слизовій оболонці якої особливий інтерес представляють утвори, що забезпечують захисні реакції внутрішнього середовища організму від сторонніх агентів зовнішнього походження.

Найпоказовішими утворами периферійного відділу імунної системи є специфічні структуровані лімфоепітеліальні асоціації – поодинокі й групові лімфоїдні вузлики. Останні відомі під назвою пейерових бляшок, які, відповідно даним літератури, при експериментальному моделюванні антибіотик-асоційованого дисбактеріозу мають тенденцію до регресії.

Нині вважають, що з'ясування цієї сторони проблеми є найважливішою передумовою в лікуванні дисбактеріозів, що асоціюються з антибіотиками. У зв'язку з цим у літературі наголошується, що вилікувати дисбактеріоз без надання відповідної дії на імунітет організму дуже складно. За сучасними уявленнями, більшість імунних реакцій тонкої і товстої кишок відбуваються в бар'єрних тканинах їх слизових оболонок, що зазнають безперервного антигенного навантаження внаслідок спроб проникнення у внутрішнє середовище організму патогенних мікроорганізмів. Відомо, що бар'єрна

функція слизових оболонок реалізується за допомогою єдиної системи, яка має назву «мукозосоціована лімфоїдна тканина» (МАЛТ), структурну основу якої складає поляризований епітеліальний моношар із ентероцитів різної спеціалізації.

Такі структуровані лімфоепітеліальні утвори як поодинокі лімфоїдні вузлики й особливо пейєрові бляшки є периферійним представництвом (форпостом) специфічної (адаптивної) імунної системи, де не лише ініціюються імунні реакції, а й відбувається їх перехід із місцевого рівня на системний. Відповідно до сучасної концепції ці реакції опосередковані шаром ентероцитів, що покриває люмінальну поверхню пейєрових бляшок. Він дістав назву фолікуло-асоціованого епітелію, тому що тісно консолідований з апікальними відділами лімфоїдних вузликів. Цей кишковий епітелій розглядається як поляризований моношар ентероцитів різної спеціалізації, серед яких особливого значення надають так звані М-клітинам. Саме їм відводять ключову роль у опосередкуванні взаємодії між патогенною мікрофлорою тонкої та товстої кишок і структурованою лімфоїдною тканиною пейєрових бляшок. Наведене свідчить, що питання підняті автором представленої дисертації є актуальними і потребують вирішення.

## **2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами**

Дисертаційна робота є фрагментом планової комплексної науково-дослідної теми кафедри анатомії людини Української медичної стоматологічної академії «Вікові аспекти структурної організації органів імунної системи, залоз шлунково-кишкового тракту і сечостатевої системи людини в нормі і патології», № державної реєстрації 0116U004192. Тема дисертації затверджена на засіданні Проблемної комісії «Фундаментальні дисципліни» Української медичної стоматологічної академії (протокол № 3

від 30.09.2019 р.) та Вченої ради Української медичної стоматологічної академії (протокол № 4 від 09.10.2019 р.).

### **3. Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота їх викладу в опублікованих працях**

Дисертантом розширені й доповнені наукові поняття про те, що шлунок білих щурів істотно вирізняється від шлунка людини наявністю в ньому додаткового резервуарного відділу (передшлунка), який автор запропонував називати «фундальним» відділом. Уперше доведено, що цей відділ виконує суто механічну функцію.

Уточнені наукові дані, що істотні видові особливості властиві також будові товстої кишки білих щурів. Сліпа кишка в цього виду гризунів відповідна за об'ємом зі шлунком; завдяки особливостям будови слизової оболонки вона є саме тим відділом, в якому відбуваються процеси утилізації грубих харчових компонентів (клітковини) під час їх бактеріального розщеплення. Уперше показано, що висхідна частина ободової кишки білих щурів вирізняється унікальною конфігурацією слизової оболонки за рахунок наявності в ній спірально орієнтованих складок-рифлей.

Тонка кишка є за морфофункціональною характеристикою єдиним відділом у шлунково-кишковому тракті білих щурів, який у мініатюрі відповідає такому людині, що може слугувати зручним об'єктом для експериментальних досліджень. Отримані та систематизовані необхідні для подальшого експериментального дослідження первинні метричні параметри, а також проведений ретельний аналіз мікроскопічної будови її слизової оболонки.

Уперше звернено особливу увагу на те, що неодмінними базисними структурами слизової оболонки тонкої і товстої кишок білих щурів є ліберкюнові залози, тобто кишкові крипти, які правомірно вважати структурами вродженого (неспецифічного) імунітету слизових оболонок

тонкої і товстої кишок, що значно розширює чинну концепцію про мукозоасоційовану лімфоїдну тканину.

Важливим положенням при вивченні пейєрових бляшок тонкої кишки є те, що їхні розміри безпосередньо залежать від кількості лімфоїдних вузликів, інтегрованих у них за допомогою окремих модульних асоціацій гемомікроциркуляторного русла, серед яких за розмірами автором запропоновано розрізняти малі, середні й великі.

Результати проведених досліджень показали, що найсуперечливішим є питання про структуру «фолікуло-асоційованого епітелію». Запропоновано називати його «лімфоїдно-асоційований епітелій», тому що він, насправді, покриває не «фолікули», а апікальні частини лімфоїдних вузликів. Уперше виявлено унікальний варіант його будови у вигляді роздільних колонкових (фрактальних) утворів, які в найнаочнішій формі втілюють у собі тісний зв'язок (симбіоз) кишкового епітелію з лімфоїдними структурами пейєрових бляшок. Уточнено дані про будову кишкового епітелію, представленого ентероцитами різної спеціалізації, серед яких наявні особливі М-клітини, які виконують провідну роль у ініціації імунних реакцій у слизових оболонках тонкої і товстої кишок завдяки їхній здатності до фагоцитозу та перенесення патогенів з їх умісту до імунокомпетентних клітин лімфоїдних вузликів.

Заповнено існуючу в літературі прогалину щодо концепції про М-клітини, яка полягає в тому, що в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок наявні ентероцити, наділені фагоцитарними властивостями.

Уперше отримано винятково нові дані при вивченні будови пейєрових бляшок тонкої кишки білих щурів після перорального введення антибіотика широкого спектра дії – кларитроміцину. Встановлено, що генетично детермінована загальна кількість пейєрових бляшок у тонкій кишці статевозрілих тварин є константою, тоді як кількість у них різних за генерацією лімфоїдних вузликів слід вважати величиною змінною, залежною від стану мікробіоценозу кишки.

Установлено, що під дією антибактеріального препарату на мікрофлору тонкої і товстої кишок відбувається поява в слизовій оболонці тонкої кишки нових зачаткових генерацій пейєрових бляшок. Уперше показано, що зачаткові форми пейєрових бляшок утворюються внаслідок морфогенетичного перетворення кишкових ворсинок на преформованій основі ліберкюнових залоз, тобто кишкових крипт.

За результатами дослідження опубліковано 40 наукових праць, у тому числі 23 статті, серед яких: 14 статей – у вітчизняних спеціалізованих виданнях, що входять до переліку МОН України (з них 2 – у журналі, що входить до наукометричної бази даних Web of Science); 9 статей у закордонних наукових періодичних виданнях (Грузія, Польща, Білорусь, з яких 7 статей індексуються міжнародною наукометричною базою SCOPUS), 8 статей опубліковано англійською мовою, 11 статей – моноавторські; 14 тезах доповідей Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій і конгресів, серед яких 4 тези – закордонні (Польща, Білорусь, РФ). Отримано 3 патенти України на корисну модель. Опубліковані наукові праці містять повний обсяг матеріалу, викладеного у дисертації.

Зміст автореферату відповідає основним положенням дисертації і досить об'ємно висвітлює дані представленої наукової роботи.

#### **4. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження**

Викладені в дисертації Гриня В.Г. нові фактичні дані про морфофункціональні особливості шлунково-кишкового тракту білих щурів забезпечують коректний підхід до розв'язання певних проблем експериментальної медицини. При цьому найбільш прийнятним об'єктом для експериментальних досліджень слід вважати тонку кишку даного виду лабораторних тварин, тому що саме вона, на відміну від шлунка і товстої кишки, тотожна тонкій кишці людини. У зв'язку з цим отримані при її морфологічному вивченні результати й особливо якісні мікрофотографії

заслуговують на впровадження в навчальний процес на кафедрах морфологічного профілю.

У результатах, отриманих при вивченні цитологічних особливостей лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок тонкої кишки, мають бути зацікавлені фахівці з імунології й інфекційних хвороб. Особливо це стосується чинної концепції про функціональне призначення М-клітин, уявлення про які, відповідно до отриманих даних, потребують перегляду.

Суто клінічний інтерес, звичайно, представляють результати, отримані при вивченні морфологічного стану пейєрових бляшок тонкої кишки після дії на її мікрофлору антибактеріального препарату широкого спектра дії, яким у експерименті був кларитроміцин, який вводили тваринам перорально. Заслуговує на увагу і той факт, що цей антибіотик володіє сильно вираженими імунотропними властивостями, які виявляються перш за все в значній функціональній гіперплазії лімфоїдної тканини пейєрових бляшок, а також у появі в слизовій оболонці тонкої кишки їхніх зачаткових генерацій.

Результати проведених досліджень упроваджено в науково-педагогічну роботу кафедр: анатомії та патологічної фізіології Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (м. Київ); анатомії людини імені М.Г. Туркевича, гістології, цитології та ембріології, анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці); морфології Медичного інституту СумДУ МОН України (м. Суми); анатомії, клінічної анатомії, оперативної хірургії, патоморфології та судової медицини Чорноморського національного університету імені Петра Могили МОН України (м. Миколаїв); патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України (м. Харків); анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії, гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету МОЗ України (м. Харків); фізіології та анатомії людини національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків);

нормальної анатомії, гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України (м. Львів); анатомії людини, гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України (м. Івано-Франківськ); анатомії людини, гістології та ембріології, медичної біології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль); оперативної хірургії та клінічної анатомії, гістології, фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України (м. Вінниця); анатомії людини Донецького національного медичного університету МОЗ України (м. Краматорськ); анатомії людини ДЗ «Луганський державний медичний університет» МОЗ України (м. Рубіжне); нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету МОЗ України (м. Одеса); анатомії людини, фізіології, гістології, цитології та ембріології, експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією, клінічної анатомії та оперативної хірургії, внутрішньої медицини № 1, хірургії № 3 Української медичної стоматологічної академії МОЗ України (м. Полтава); віварію, науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Української медичної стоматологічної академії МОЗ України (м. Полтава); а також у лікувальну роботу гастроентерологічного центру Комунального підприємства «Полтавська обласна клінічна лікарня імені М.В. Скліфосовського Полтавської обласної ради» МОЗ України (м. Полтава).

Автором розроблено способи дослідження ангіоархітектоніки шлунка та тонкої кишки білих щурів та одержано патент на корисну модель № 139127 «Спосіб дослідження ангіоархітектоніки шлунку білих щурів» та патент на корисну модель № 141481 «Спосіб дослідження ангіоархітектоніки тонкої кишки білих щурів»); патент на корисну модель № 142955

«Операційно-препарувальний столик з фіксаторами для лабораторних щурів».

## **5. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації**

Дисертація та її автореферат оформлені відповідно до «Основних вимог до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК МОН України. Робота викладена українською мовою на 465 сторінках комп'ютерного друку (основний текст розміщений на 298 сторінках), містить анотацію українською та англійською мовами, зміст, список публікацій, вступ, огляд літератури, розділ присвячений загальній методиці та основним методам дослідження, чотири розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки, за обсягом і змістом відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук. Робота містить 97 рисунків та 8 таблиць. Список використаних джерел містить 439 найменування вітчизняних і зарубіжних авторів, з яких кирилицею – 241, латиницею – 198.

Дисертаційна робота Гриня В.Г., виконана з використанням сучасних морфологічних та лабораторних методів досліджень на достатній для статистичного аналізу кількості експериментального матеріалу. Усі використані методики є загальновизнаними та такими, що знайшли використання у наукових експериментальних дослідженнях медико-біологічного спрямування як в Україні, так і за кордоном. Слід зазначити, що застосовані у роботі методики та експериментальна модель адекватні вирішенню завдань дисертаційного дослідження.

З методичної точки зору, усі дослідження виконані правильно, а сформульовані автором положення, висновки і практичні рекомендації є логічним наслідком результатів власних досліджень. Статистичну обробку даних проведено в повному обсязі, їх вірогідність не викликає сумнівів.



Текст дисертації як за змістом, так і редакційно викладено та оформлено якісно. Назва роботи повністю відповідає меті та основному змісту дисертації. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки.

Автореферат повністю відповідає змісту дисертації і оформлений за сучасними вимогами. Основні наукові положення і висновки дисертації достатньо апробовані на чисельних науково-практичних конференціях, конгресах і з'їздах, де були позитивно схвалені провідними галузевими спеціалістами.

## **6. Характеристика розділів роботи**

У відповідності до наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» дисертаційна робота Гриня В.Г. починається з анотації, ключових слів і списку публікацій за темою дисертації, які написані державною та англійською мовами. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У вступі, який викладений на 19 сторінках, дисертант обґрунтовує актуальність обраної теми, аргументовано визначає мету і завдання дослідження, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів дослідження, наводить кількість наукових праць, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації, і кількість наукових праць, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Розділ «Огляд літератури» викладений на 52 сторінках, складається з шести підрозділів у яких, відповідно, висвітлено порівняльну морфофункціональну характеристику шлунково-кишкового тракту людини і білих щурів у нормі й під дією антибактеріальних препаратів.

На підставі аналізу літературних джерел автор приходить до висновку, що гомологічність шлунково-кишкового тракту людини й білих щурів підтверджується також даними літератури про уніфікований принцип будови

його стінки, в якій виділяються відомі три оболонки. Серед них – слизова оболонка, яка в плані наших досліджень є основною, бо в ній зосереджені ті структури, які забезпечують його провідні функції. Особливий інтерес представляють утвори, що належать до ініціальних ланок при розвитку в слизових оболонках травного тракту імунних реакцій. Лімфоепітеліальні асоціації у вигляді лімфоїдних вузликів слизової оболонки шлунково-кишкового тракту належать до специфічного (адаптивного) відділу його імунної системи, тоді як пристінкова (мукозна) мікрофлора разом із покривним епітелієм виконує неспецифічну функцію.

У розділі «Матеріал і методи дослідження», який займає 18 сторінок подано схему та дизайн експерименту, наведені данні щодо кількості лабораторних тварин, задіяних в експерименті, детально охарактеризовані використані методи. Даний розділ складається з 9 підрозділів, проілюстрований 1 таблицею та 2 малюнками.

Етичні та правові проблеми дослідження вирішено у межах існуючих Міжнародних конвенцій та законодавства України, принципів біоетики, встановлених Директивою Європейського Парламенту та Ради (2010/63/EU) і наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249 «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Всі експериментальні дослідження і, неминуче пов'язана з ними, евтаназія тварин проводилися з дотриманням вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург 1985 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ 2006 року) зі змінами, вимог міжнародних рекомендацій проведення медико-біологічних досліджень, вимог Закону України «Про проведення клінічних досліджень» № 218 від 01.11.2000 р. зі змінами, вимог Закону України «Основи законодавства України про охорону здоров'я» № 286 від 27.12.2001 р. зі змінами, наказів МОЗ України та вимог Етичного кодексу лікаря України та Етичного кодексу вченого України.

Комісією з питань біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії (протокол № 187 від 22.10.2020 року) встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам, порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Використані методи цілком дозволяють вирішити поставлені завдання дослідження.

Результати власних досліджень викладені в чотирьох розділах. Кожен з розділів завершується коротким підсумком та зазначенням публікацій дисертанта, в яких викладені матеріали даного розділу.

Перший розділ присвячений вивченню анатомічної будови шлунково-кишкового тракту білих щурів. В другому розділі описана загальна гістологічна характеристика органів шлунково-кишкового тракту білих щурів. Третій розділ присвячений вивченню структурної організації групових лімфоїдних вузликів тонкої кишки білих щурів у нормі. У четвертому розділі наведена морфологічна характеристика шлунково-кишкового тракту білих щурів після курсового введення антибіотика широкого спектра дії. Усі розділи мають достатню кількість високоякісних ілюстрацій, що полегшує сприйняття викладеного матеріалу, кожен з розділів закінчується переліком друкованих праць дисертанта, в яких викладені основні результати власних досліджень.

Розділ «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» викладений на 33 сторінках, складається з двох підрозділів, проілюстрований 2 малюнками. У ньому дисертант провів ретельний аналіз отриманих результатів, порівняв отримані результати з даними інших дослідників. Цей розділ дисертаційної роботи також достатньо ілюстрований.

Висновків у дисертації 10, вони повністю відповідають поставленим завданням і узагальнюють отриману під час дослідження інформацію. Автор наводить практичні рекомендації щодо подальшого застосування результатів дослідження.

Перелік використаних літературних джерел містить 439 найменування вітчизняних і зарубіжних авторів (обсягом 51 сторінка), з яких кирилицею – 241, латиницею – 198.

## **7. Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення**

Дисертаційна робота Гриня Володимира Григоровича є самостійним завершеним науковим дослідженням, яке в цілому можна оцінити позитивно. Принципових недоліків щодо структури, змісту, оформлення і обсягу представлена дисертація немає.

Разом із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи необхідно вказати на такі зауваження:

1. На сторінці 63 при використанні терміну «клітини-супресори» бажано уточнити фенотип клітин, про які йде мова (CD25+FOXP3 T-регуляторні лімфоцити).

2. В тексті дисертації трапляються граматичні помилки та терміни запозичені з російської мови.

3. Досить громіздким є сторінковий об'єм списку використаних джерел літератури, проте усі літературні джерела сучасні та науково обґрунтовані.

Варто ще раз зазначити, що представлені зауваження не зменшують науково-теоретичної та практичної цінності представленої дисертаційної роботи.

Також у процесі рецензування виникли наступні запитання для дискусії:

1. Ви піддали сумніву загальноприйнятту концепцію про M-клітини. Які у вас є для цього аргументи ?

2. Які морфофункціональні особливості травної системи щурів роблять їх більш резистентними до вживання неякісної їжі та токсичних речовин порівняно з відповідними органами людей ?

3. В інструкції до кларитроміцину як побічна дія наводиться ризик розвитку гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ). Чи виявили Ви структурні підтвердження можливості розвитку цієї патології у щурів, що отримували цей антибіотик ?

#### **8. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці**

Результати дисертаційної роботи суттєво розширюють сучасні уявлення про морфофункціональні особливості шлунково-кишкового тракту білих щурів. Клінічний інтерес в галузі гастроентерології становлять результати, отримані при вивченні морфофункціонального стану пейєрових бляшок тонкої кишки після впливу на її мікрофлору антибактеріального препарату широкого спектру дії, яким в експерименті слугував кларитроміцин. З клінічної точки зору, заслуговує уваги той факт, що даний антибіотик володіє вираженими імунотропними властивостями, які зумовлені функціональною гіперплазією лімфоїдної тканини пейєрових бляшок, а також у появі в слизовій оболонці тонкої кишки їх зародкових генерацій.

#### **9. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Гриня Володимира Григоровича «Морфофункціональні особливості шлунково-кишкового тракту білих щурів у нормі та при впливі кларитроміцину» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.01 «Нормальна анатомія» є завершеною науково-дослідною працею, яка містить наукові положення та науково обґрунтовані результати проведених безпосередньо автором досліджень у медичній галузі науки, що вирішують важливу наукову проблему, а саме: встановлення ступеню морфофункціональних розбіжностей та прийнятної відповідності між органами шлунково-кишкового тракту білих щурів і людини й розкривають в експерименті

характер морфологічних змін його групових лімфоїдних вузликів під впливом кларитроміцину.

За актуальністю теми, обсягом виконаного дослідження, достовірністю висновків і положень, новизною отриманих результатів для науки, теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота повністю відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами) щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія.

### **ОФІЦІЙНИЙ ОПОНЕНТ:**

**завідувач кафедри анатомії, клінічної анатомії**

**та оперативної хірургії Буковинського державного**

**медичного університету МОЗ України,**

**доктор медичних наук, професор**

**О.М. Слободян**

Підпис професора Слободяна О.М. засвідчую  
Вчений секретар  
Буковинського державного  
медичного університету



**І.І. Павлуник**