

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Мазуркевич Тетяни Анатоліївни на тему: «Морфофункціональні особливості імунних утворень кишечника свійської качки (*Anas platyrhynchos* var. *domestica*) у постнатальному періоді онтогенезу», представленій на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин

Актуальність теми

Морфо-функціональний стан імунокомпетентних органів та структур, які продукують клітинні і гуморальні фактори імунітету є важливим чинником, що визначає життєздатність організму тварин та їх продуктивні якості. Значущість імунних структур визначається їх “бар’єрною” функцією, яка, базуючись на складних біохімічних процесах, забезпечує розпізнавання, зв’язування та виведення генетично чужорідного матеріалу. Тим самим, підтримується сталість внутрішнього середовища організму тварин, що є основою для оптимального функціонування інших систем. Відповідно, дослідження постнатального становлення органів імуногенезу, створює передумови для удосконалення технології вирощування та експлуатації свійських ссавців і птахів з метою підтримання їх оптимальних життєвих параметрів та забезпечення високої продуктивності.

Для забезпечення ефективного рівня захисту, імунні утворення розташовані в різних ділянках тіла пропорційно до їх зовнішнього антигенного навантаження. Оскільки, основна маса антигенів надходить в організм тварин із кормом та водою, тому у стінці трубчастих органів травлення локалізується біля 70 % лімфоїдної тканини імунокомпетентних структур (мигдалики, плямки Пейєра, тощо).

Зрозуміло, що завдяки своїй важливості, імунні утворення органів травлення піддаються ретельному вивченню, як в людей, так і в багатьох видів ссавців та птахів. Проте, вважати це питання цілковито вивченим, не доводиться. При цьому, наявні результати часто є не повними, фрагментарними, інколи суперечливими, або взагалі відсутніми. Зокрема, це стосується вікової морфології імунних утворень кишечника качок. Тому представлена дисертаційна робота, яка забезпечила вивчення зазначеного питання, є актуальною.

Наукова новизна досліджень та одержаних результатів

Наукова новизна роботи виходить з актуальної тематики та базується на достовірних результатах досліджень. Це дозволило отримати нові дані щодо морфо-функціональних особливостей імунних утворень кишечника качок Благоварського кросу в постнатальному періоді онтогенезу. Встановлено, що плямки Пейєра макроскопічно виявляються з 5-добового віку качок. При цьому, лімфоїдна тканина в слизовій оболонці всіх імунних утворень та в м’язовій

оболонці сліпокишкових дивертикулів виявляється з добового віку птахів, в м'язовій оболонці інших імунних структур – з 10–20 добового. Виявлено вікові та топографічні особливості плямок Пейєра, кількість яких в дванадцятипалій і клубовій кишках дорівнює одній плямці; у порожній кишці качок віком від 1 до 240 діб – три плямки; у 330 добових качок – дві плямки та в 420 добових качок – одна плямка. Сліпі кишки містять 60-80 плямок Пейєра, розташованих ланцюжком. Охарактеризовано відмінності форми плямок в різних кишках: у дванадцятипалій кишці – конічна, у порожній – кільцеподібна, у клубовій – прямокутна, у сліпих кишках – округла, овальна та конічна. Доведено, що лінійні розміри дивертикула Меккеля зазнають різної вікової динаміки. Так, його довжина збільшується від добового до 150 добового віку на 361,54 %, а ширина – від добового до 120 добового віку лише на 60,71 %. До 420-добового віку величина обидвох показників зменшується відповідно на 55,56 % та 24,45 %. Поряд з тим, сліпокишкові дивертикули, як імунні утворення, виявляються у качок лише до 330-добового віку. Встановлено, що стінка імунних утворень кишечника качок містить широкий набір клітин з різноманітними функціями – це клітини поверхневого епітелію (облямівкові, келихоподібні, ентероендокриноцити, М-клітини, серед яких знаходяться лімфоїдні клітини), фібробласти, фіброцити, гладкі м'язові клітини, тучні клітини, макрофаги, колагенові, еластичні і ретикулярні волокна.

Встановлено, що розвиток морфо-функціональних рівнів лімфоїдної тканини у слизовій оболонці імунних утворень качок відбувається поетапно і асинхронно. У м'язовій оболонці такої закономірності немає. Асинхронність також спостерігається в термінах досягнення імунними утвореннями повної морфо-функціональної зрілості, яка в сліпокишкових дивертикулів настає на 10 добу, у плямок Пейєра дванадцятипалої, порожньої та сліпих кишок – на 15 добу, у плямок Пейєра клубової кишки та дивертикула Меккеля – на 20 добу.

Важливо, що всі імунні утворення мають однакову мікроскопічну будову, а їх розвиток не закінчується з настанням повної морфо-функціональної зрілості птахів.

Отже, можна стверджувати, що отримані дисертантом результати досліджень не були раніше відображені у науковій літературі, а тому вони характеризуються науковою новизною.

Загальна характеристика, обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота Мазуркевич Т. А. написана українською мовою і відповідає вимогам МОН України, щодо докторських дисертацій. Робота викладена на 394 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 87 рисунками та 59 таблицями. Список літератури налічує 640 найменувань, у тому числі 340 латиницею.

Робота складається із вступу, огляду літератури, вибору напрямів досліджень, матеріалів і методів виконання роботи, результатів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних літературних джерел та додатків.

У вступі, який займає 9 сторінок, автор актуалізує, вибрану ним, тему наукової роботи та методологію її виконання, акцентує увагу на новизні проведених досліджень та отриманих результатів, вказує апробованість та опублікованість останніх.

Розділи, з яких складається «Вступ», а саме: «Актуальність теми», «Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами», «Мета та завдання дослідження», «Об'єкт дослідження», «Предмет дослідження», «Методи дослідження», «Наукова новизна одержаних результатів», «Практичне значення одержаних результатів», «Особистий внесок здобувача», «Апробація роботи» та «Публікації» є ідентичними у дисертації та авторефераті.

Огляд літератури займає 50 сторінок та розділений на 5 підрозділів, три з яких містять окремі пункти та підпункти. Дисертант у логічній послідовності та з використанням об'єктивного аналізу подає найбільш значущі результати науковців, що в різних видів тварин вивчали імунну систему організму в цілому та кишечника зокрема. Викладений матеріал дозволяє сформулювати достатньо повне та враження про сучасний рівень знань у даній проблематиці. При цьому, насамперед описується загальна характеристика органів гемопоезу та лімфопоезу, подається їх класифікація, характеризується топографія і функція, як цілих груп, так і окремих органів. Окремо розглядаються особливості органів гемопоезу та лімфопоезу птахів, у яких вперше відбувається відокремлення лімфоїдної тканини від мієлоїдної, хоча між цими ланками гемопоетичної системи зберігається тісний зв'язок. Високий рівень розвитку імунної системи птахів підкреслюється наявністю клоакальної сумки (бурси Фабріціуса), яка не виявлена у інших видів клоачних тварин; залози Гардера, яка вперше з'являється у птахів та виявляється у багатьох ссавців; та стравохідного мигдалика, якого немає у інших видів хребетних тварин. Описуючи окремі органи, вказується на їх ролі у формуванні імунної відповіді на інфекцію. Особливий акцент дисертант робить на характеристиці топографії та макроструктури імунних утворень органів травного каналу птахів. Вказується, що кількість лімфоїдної тканини в органах травного каналу курей збільшується від ротоглотки до верхівки сліпих кишків, а найбільша її кількість сконцентрована в місцях переходу одного відділу апарату травлення в інший. Сукупно, лімфоїдна тканина складає майже чверть всієї маси слизової оболонки травного каналу та формує наступні органи: стравохідний мигдалик, плямки Пейєра, дивертикул Меккеля, сліпокишкові мигдалики та апікальний сліпокишковий дивертикул. На мікроскопічному рівні окремі імунні утворення кишечника птахів мають цілий ряд особливостей, пов'язаних з їх структурою та віковим формуванням. Розвиток лімфоїдної тканини у всіх органах відбувається поступово, від її дифузної форми, через передвузлики, до утворення первинних та вторинних лімфоїдних вузликів. Настання функціональної зрілості окремих органів має часові коливання, залежить від видового чинника та впливу зовнішніх факторів (потрапляння мікроорганізмів, вакцинації). Сама лімфоїдна тканина є складною структурою, клітинний склад якої зазнає змін у процесі її розвитку.

У останньому підрозділі автор поводить критичне узагальнення попередньо викладеного матеріалу, визначає питання, які, або недостатньо, або взагалі не висвітлені в науковій літературі, і, на основі цього, формулює мету і завдання дисертаційної роботи.

Другий розділ роботи «Вибір напрямів досліджень, матеріал і методи виконання роботи» представлений на 8 сторінках та розділений на 2 підрозділи. У першому з них дисертант характеризує дослідних тварин, їх стать масу, кількість, годівлю та умови утримання. Акцентується увага на тому, що під час виконання практичної частини роботи було дотримано вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001 р.) і Закону України № 692 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (3447-IV) від 21.02.2006 р. Другий підрозділ містить достатньо повний опис використаних методів, кожний з яких є ефективним та інформативним. У цілому, підібрані методи є взаємодоповнюючими, що забезпечило якісне виконання дослідної частини роботи. Сукупно, дисертант використав наступні методи досліджень: макроскопічні – для морфологічної характеристики кишечника та його імунних утворень; гістологічні – для морфологічної характеристики імунних утворень на мікроскопічному рівні; електронномікроскопічні – для морфологічної характеристики клітинного складу імунних утворень на ультрамікроскопічному рівні; імуногістохімічні – для виявлення окремих видів клітин в імунних утвореннях кишечника качок (стовбурових гемопоетичних клітин, природних кілерів, диференціації лімфоцитів та їх ефекторних клітин); морфометричні – для визначення розмірів морфологічних структур; статистичні – для обробки цифрових показників результатів досліджень.

Третій розділ роботи містить викладення всього багатого дослідного матеріалу, завдяки фаховому поданню якого, окремі результати досліджень об'єднуються в єдину цілісність, що формує позитивне враження про виконану роботу. Розділ викладено на 171 сторінці та розділено на 5 підрозділів, кожен з яких містить кілька пунктів. Розділ розпочинається з характеристики макроскопічних морфометричних показників кишечника качок. Вказується вікова динаміка довжини цілого кишечника, окремих його відділів (тонкої та товстої кишок) та окремих кишок. Встановлено, що довжина всього кишечника качок нерівномірно збільшується до 150-добового віку майже в 5 разів. Найбільш інтенсивно це відбувається від першої до 5 доби життя птахів. Далі, у віковому аспекті розглядається топографія і макроморфометричні показники імунних утворень кишечника качок (плямок Пейєра, дивертикула Меккеля, сліпокишкових дивертикулів). Плямки Пейєра можна виявити візуально без застосування спеціальних методів, починаючи з 5 добового віку птахів. Їх розміри збільшуються у дванадцятипалій кишці – до 150 добового віку качок, у порожній кишці – до 120 добового віку, у клубовій кишці – до 120 добового віку (довжина) та до 150 добового віку (ширина), у сліпих кишках – до 150 добового віку (права кишка) та до 120-150 добового віку (ліва кишка). Дивертикул Меккеля збільшується в розмірах до 150 добового віку (довжина), а

його максимальний діаметр виявляють в 120 добових особин. Сліпокишковий дивертикул виявляли у качок протягом перших 330 діб життя. При цьому, у правій сліпій кишці його максимальні довжина та товщина досягали в 120 добовому віці качок, а лівій сліпій кишці – вже у добовому віці. Проте, домінуюча частка отриманих результатів присвячена мікроскопічній будові стінки імунних утворень кишечника качок. Серед оболонок їхньої стінки найбільшу площу займає слизова оболонка, максимальні значення якої в усіх імунних утвореннях кишечника відмічаються протягом перших 25 діб життя птахів. Основу імунних утворень кишечника формує лімфоїдна тканина, яка в процесі свого розвитку проходить чотири структурно-функціональних рівні: дифузна лімфоїдна тканина, передвузлики, первинні лімфоїдні вузлики, вторинні лімфоїдні вузлики. Зміна рівні у різних кишках відбувається асинхронно. Далі розглядається клітинний склад досліджуваних імунних утворень кишечника качок. З поміж 12 виявлених видів клітин, найчисленнішу групу формують лімфоцити, серед яких найчастіше трапляються малі, рідше – середні і найрідше – великі форми. Завершується розділ імуногістохімічною характеристикою окремих клітин та субпопуляцій лімфоцитів у лімфоїдній тканині імунних утворень кишечника качок. При цьому виявлено, що в окремих ділянках плямок Пейєра та дивертикулі Меккеля качок віком 180 діб виявляються стовбурові клітини крові (CD34+), що вказує на можливість утворення в них Т- і В-лімфоцитів.

Кожний підрозділ завершується коротким висновком, що резюмує викладений матеріал.

У четвертому розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», який займає 28 сторінок, автор подає трактування отриманих ним результатів, порівнює їх з даними інших науковців, акцентуючи увагу на узгоджених моментах та виявлених розбіжностях, аргументовано пояснює причини останніх. Вказує на роль власних досліджень у доповненні бази знань стосовно морфології імунних органів. Описуючи вікову динаміку досліджуваних структур, дисертант характеризує причинно наслідковий зв'язок цього процесу з поглядом морфо-функціональних зв'язків в організмі.

Представлені результати досліджень дають відповіді на всі поставлені завдання та вказують на те, що мета роботи розкрита.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та значення їх для науки і практики

Дисертаційна робота Мазуркевич Т. А. є завершеною науковою працею, наукову ідею якої сформульовано під час опрацювання великої кількості сучасної наукової літератури, що дозволило виявити недостатньо вивчені та суперечливі питання. Сформульовані, на основі цього, мета та завдання дисертації характеризуються чіткістю та зрозумілістю. Сама робота відзначається ґрунтовністю та фаховістю виконання на достатній кількості піддослідних тварин. Отримані результати є інформативними та сукупно формують єдину логічну послідовність. Їх трактування хоча і є різнорівневим, проте підпорядковане єдиній ідеї, що дозволило сформулювати обґрунтовані

наукові положення. Оскільки, робота є морфологічною, тому характеризується великою кількістю якісних фотографічних унаочнень, що підтверджують отримані результати та допомагають краще їх зрозуміти.

Висновки відповідають поставленим завданням, характеризуються вираженою структурованістю, інформативністю, містять достатню кількість цифрового матеріалу та у лаконічній формі відображають весь багатий дослідний матеріал. Отже, висновки з впевненістю можна вважати обґрунтованими.

Представлені рекомендації підтверджують значення роботи та вказують на можливість використання її результатів в різних напрямках ветеринарної медицини.

Теоретичне значення роботи насамперед проявляється у тому, що вона була частиною бюджетної наукової теми (номер державної реєстрації – 0111U003688) та фрагментом ініціативної теми кафедри гістології, цитології та ембріології (нині кафедра анатомії, гістології і патоморфології тварин імені акад. В. Г. Касьяненка) Національного університету біоресурсів і природокористування України (номер державної реєстрації – 0108U004981). Результати роботи також зацікавлять морфологів, імунологів та фізіологів, які досліджують органи апарату травлення птахів, особливо з погляду вакцинації останніх. Для цього дисертантом розроблені науково-методичні рекомендації «До встановлення оптимальних строків щеплення курчат і каченят проти інфекційних хвороб (за даними морфологічних досліджень)».

Практичне значення роботи полягає в тому, що дослідження розвитку імунних утворень дає змогу більш повно оцінити морфо-функціональний статус качок певного віку, що, у свою чергу, буде корисним для практичної діяльності лікарів та технологів під час розробки науково-обґрунтованих технологій утримання, годівлі, використання качок і в селекційній роботі. Результати роботи також впроваджено в навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедр морфологічного профілю цілого ряду закладів вищої освіти України.

Опублікування основних результатів дисертації

Основні результати дисертації достатньо повно викладені в 37 наукових працях. З них 26 – це статті у фахових наукових виданнях, серед яких 11 – входять до наукометричних баз даних. Дев'ять праць представлені у матеріалах конференцій, одна праця належить до методичних рекомендацій, а також, отримано один патент України на корисну модель.

Виявлені недоліки у змісті та оформленні дисертації

На фоні позитивної оцінки дисертаційної роботи та одержаних результатів, дисертанту варто вказати на певні зауваження:

1. Згідно вимог, об'єкт дослідження у дисертаційній роботі повинен відображати дію, або процес, тому у даній роботі об'єкт досліджень краще було б представити у формі «Формування імунних утворень кишечника качок».

2. У другому розділі роботи вартувало зазначити, що перед відбором матеріалу для морфологічних досліджень проводили клінічний огляд птахів і в дослід включали лише клінічно здорових особин. Відповідно, до методів досліджень дисертації вартувало включити клінічні методи.

3. У дисертації велику кількість разів трапляються терміни «тонкий кишечник» та «товстий кишечник». Замість них необхідно було вживати терміни відповідно «тонка кишка» та «товста кишка».

4. Оскільки, більшість макроморфометричних показників дивертикула Меккеля та всі показники сліпокишкових дивертикулів є меншими одиниці, тому їх краще було б визначати в «мм», а не в «см».

5. Не доцільно використовувати в огляді наукової літератури методичні рекомендації (джерело 105, 122).

6. При описі методики електронної мікроскопії (розділ 2) не вказано параметри напруги при якій проводили дослідження.

7. На рисунках 3.2., 3.4. варто було б вказати, що це макропрепарат (або нативний препарат).

8. У роботі не вказано у якій ділянці плямок Пейєра визначали їхню ширину. Особливо це стосується ланцюжків плямок Пейєра сліпих кишок, які мають значну довжину. Чи, можливо брався найбільший показник?

9. На рисунку 3.52. видно що лімфоїдні вузлики здебільшого мають дещо неправильну форму і розташовані під різними кутами. Тому не зрозуміло як визначали їхню довжину та ширину.

10. На рисунку 3.12. кольори не відповідають заявленому фарбуванню гематоксиліном та еозином.

11. На рисунку 3.57. кольори не відповідають заявленому фарбуванню за ван Гізон.

12. Не зрозуміло, що означає термін «на умовній одиниці площі», використаний в таблицях 3.52.-3.59.

13. На рисунку 3.26. під номером 4 показано внутрішній поздовжній шар м'язової оболонки, хоча, на мою думку, краще було б вказати, що це м'язова пластинка слизової оболонки.

Хотілося б, автору дисертації, поряд із зауваженням задати і деякі питання:

1. У чому полягає модифікація методу Келемена, що використовувався для імпрегнації ретикулярних волокон?

2. Чому, для проведення мікроморфометричних досліджень застосовували лише інструментальні методи, а не використовували сучасні морфометричні комп'ютерні програми?

3. Яке морфо-функціональне значення мають вікові відмінності у досягненні сліпокишковим (апикальним) дивертикулом качок своїх максимальних розмірів: права сліпа кишка – у 120-добовому віці, ліва сліпа кишка – у добовому віці.

4. Чому імуногістохімічне дослідження окремих клітин та субпопуляцій лімфоцитів у лімфоїдній тканині імунних утворень кишечника качок проводили лише у трьох вікових періодах, а інших показників – в 15 вікових періодах.

5. Чому для проведення досліджень від самців качок відібрали більше матеріалу ніж від самок?

6. У розділі 2 вказано, що для зневоднення зразків тканин під час гістологічних досліджень ви використовували абсолютний спирт (стор. 87). Якщо це був етиловий спирт, то як ви його отримували?

Проте, вказані зауваження не є принциповими, вони не знижують загального позитивного враження від дисертаційної роботи та не зменшують її наукового і практичного значення.

Відповідність змісту автореферату основним положенням дисертації

Автореферат в достатньому об'ємі відображає основні положення дисертаційної роботи. Вступна частина, висновки і пропозиції виробництву є ідентичними у дисертації та авторефераті.

Висновки

Враховуючи актуальність обраної тематики, належне планування самої роботи, її фахове виконання, достовірність та новизну отриманих результатів, логічність у їх трактуванні, обґрунтованість та чіткість висновків, корисність пропозицій, подана до захисту дисертація Мазуркевич Тетяни Анатоліївни є цілісною та завершеною науковою працею, яка вирішила поставлене наукове завдання, розширила базу знань з досліджуваної проблематики, а тому характеризується теоретичним і практичним значенням для ветеринарної медицини.

Дисертаційна робота Мазуркевич Тетяни Анатоліївни на тему: «Морфофункціональні особливості імунних утворень кишечника свійської качки (*Anas platyrhynchos* var. *domestica*) у постнатальному періоді онтогенезу» повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин.

Офіційний опонент, доктор ветеринарних наук,
професор кафедри нормальної та патологічної
морфології і судової ветеринарії
Львівського національного
університету ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

А. М. Тибінка

Підпис А. М. Тибінки затверджую.
Начальник відділу кадрів
ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького

16 жовтня 2020 року



ВІРНО

Начальник відділу кадрів
Львівського
національного університету
ветеринарної медицини
та біотехнологій
імені С.З.Гжицького