

## **В І Д Г У К**

на дисертаційну роботу

**Ліхницького Олексія Олексійовича**

**на тему: «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження)»**

подану на здобуття вченого ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю

14.01.35 – кріомедицина

до спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

**Актуальність обраної теми.** Попри те, що кріобіологія та кріомедицина є порівняно молодими розділами сучасної науки, з ними пов'язані найбільші перспективи розвитку регенеративних технологій у медицині та біології. Саме вивчення фундаментальних проблем кріобіології дозволяє розширити практичні горизонти медицини шляхом підвищення ефективності лікування ряду патологічних процесів, в тому числі й таких, що не піддаються традиційним методам лікування. А створення новітніх кріотехнологій сприяє впровадженню в охорону здоров'я нових методів поліпшення здоров'я людей. Зокрема, саме кріобіологія уможливила безпечне застосування ембріональних та фетальних тканин і клітин, наприклад, кріоконсервованої плаценти, яка є унікальною структурою через наявність високого рівня мікроелементів, гормонів, вітамінів, цитокінів, факторів росту, стовбурових клітин, що зумовлює широкий спектр її дії. Препарати кріоконсервованої тканини плаценти вже знайшли широке застосовування в багатьох галузях медицини для лікування захворювань, патогенез яких пов'язано із імунopatологічними, запальними, ендокринними, генетичними й обмінно-метаболічними порушеннями. Властивості кріоконсервованої тканини плаценти є привабливими й в стоматології, зокрема

для оптимізації репаративного остеогенезу при лікування пацієнтів з переломами нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

Безумовно, сьогодні широко використовують хірургічні методи лікування переломів нижньої щелепи. Але, незважаючи на постійний розвиток і вдосконалення підходів та методик лікування зазначених станів, не завжди вдається уникнути таких ускладнень як остеомієліт, уповільнена консолідація уламків тощо. Це пов'язано з тим, що вони переважно розраховані і застосовуються для переломів кісток без остеопорозу. Проте, переломи нижньої щелепи, що зумовлені порушенням репарації і низьким рівнем кальцію, за сучасною статистикою є достатньо поширеними.

Отже, існує нагальна потреба в стимуляції остеорегенерації при переломах нижньої щелепи, що перебігають на тлі зниження щільності й порушення структури кісткової тканини внаслідок остеопорозу різного генезу. І саме властивості кріоконсервованої тканини плаценти дають можливість досягнення оптимального співвідношення між швидкістю проліферативних процесів, диференціюванням остеогенних клітинних елементів в остеобласти та фібриноутворенням, що й обумовило актуальність та перспективність обраного напрямку досліджень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дана дисертаційна робота виконана в Інституті кріобіології і кріомедицини НАН України в рамках відомчої науково-дослідної роботи «Вплив кріоконсервованої тканини плаценти людини для корекції репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів на тлі остеопорозу» (№ державної реєстрації: 0118U003454).

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.** Робота Ліхницького О.О. виконана на високому методичному рівні. Достовірність отриманих результатів забезпечується належним об'ємом експериментальної частини (245 статевозрілих лінійний самців щурів) та використанням сучасних

методів дослідження, які відповідають меті та завданням роботи. На різних етапах дослідження та в різні терміни репаративного остеогенезу автором було використано такі методи як рентгенографічний, гістологічний (за даними світлової мікроскопії), низка лабораторних методів (імуноферментні та біохімічні). Отриманий фактичний матеріал було опрацьовано адекватними методами статистичної обробки. Результати дисертації цілком переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів. Наукові положення та висновки роботи є цілком обґрунтованими та вірогідними, викладені чітко й конкретно, достатньою мірою узагальнюють сутність отриманих результатів та відповідають завданням дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів** є багатоаспектною, вагомою і полягає у 7-х положеннях з формулюванням «вперше». Так, автором вперше визначена і експериментально обґрунтована можливість і ефективність застосування кріоконсервованої тканини плаценти як самостійно та і у поєднанні з цитратом кальцію, для лікування відкритого ангулярного перелома нижньої щелепи на тлі остеопорозу. Вперше визначено характер змін показників цитокінового профілю сироватки крові, вперше встановлено особливості перебігу оксидативного та нітрозативного стресу в різні строки репаративного остеогенезу у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу. Вперше визначено роль процесів окисної деструкції білків, нітрозативного стресу та дисбалансу в системі цитокінів ФНП- $\alpha$  та ТФР- $\beta$ 1 у метаболічних перетвореннях колагену за умов відкритого АПНЦ на тлі остеопорозу. Вперше продемонстрована залежність активності процесів остеодеструкції та остеосинтезу за умов відкритого ангулярного перелома нижньої щелепи на тлі остеопорозу від профілю таких цитокінів як ФНП- $\alpha$ , ІЛ-8, VEGF та ТФР- $\beta$ 1, продукції супероксидного аніон-радикалу за участі НАДФН-оксидази, а також активності вільнорадикального окиснення протеїнів та ступеня нітрозативного стресу.

Вперше показано, що застосування кріоконсервованої тканини плаценти стимулює процеси проліферації й диференціювання клітинних та тканинних компонентів зони ушкодження, що вже на 14 добу проявляється зменшенням явищ запалення, на 21 – деструктивних процесів – на 21 добу і на 45 добу - консолидацією відламків кісток.

Вперше встановлений ампліфікуючий ефект кальцію цитрата на прояви репаративної дії кріоконсервованої тканини плаценти. Показано, що сумісне застосування кріоконсервованої тканини плаценти та кальція цитрата для лікування відкритого ангулярного перелома нижньої щелепи на тлі остеопорозу чинить більш виражену остеопротекторну дію, прискорює ангиогенез у зоні ураження, знижує імунозапальні реакції, ендотоксикоз, оксидативний та нітрозативний стреси, ніж застосування лише кріоконсервованої тканини плаценти.

**Практичне значення результатів дослідження.** Дослідження Ліхницького О.О. в значній мірі розширюють погляди на механізми дії кріоконсервованої тканини плаценти у зоні травми та обґрунтовують доцільність подальшого вивчення зазначеного напрямку у клінічній медицині з метою удосконалення протоколів лікування травматичних ушкоджень кісток.

Отримані О.О.Ліхницьким результати використовуються в лекційних курсах і при проведенні практичних занять на 12 кафедрах таких вищих навчальних закладів України як Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця; Українська медична стоматологічна академія, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та результати наукових досліджень О.О.Ліхницького обговорювались та доповідались на 5-х науково-практичних заходах різного рівня у тому числі й міжнародного.

## Оцінка змісту дисертації

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію представлено українською мовою на 206 сторінках (з яких 144 сторінки основного тексту). Дисертація побудована за традиційним стилем і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та термінів, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, з яких 135 викладені кирилицею і 86 – латиницею, а також двох додатків. Дисертацію ілюстровано 40 рисунками і 40 таблицями.

У **«Вступі»** дисертації відображена інформація щодо актуальності роботи, її зв'язку з науковою тематикою. Також у вступі представлено мету й завдання дисертації, об'єкт, предмет та методи дослідження, викладено наукову новизну одержаних результатів та практичне значення проведених досліджень, надано інформацію щодо впровадження результатів дослідження, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертаційного дослідження, публікацій, об'єму й структури дисертації. Актуальність роботи обґрунтована автором переконливо. Мета дослідження чітко сформульована та відповідає рівню кандидатських дисертацій. Відповідно до мети поставлено 6 завдань для її виконання.

Усі складові вступу сформульовано доступно і зрозуміло.

Зауважень до вступу немає.

**Розділ 1 «Плацентарна терапія як перспективний напрямок сучасної кріомедицини (огляд літератури)** викладений на 19 сторінках, що не перевищує 20 % основного обсягу роботи. Розділ складається з 3-х підрозділів та висвітлює сучасну інформацію щодо двох напрямків: перший – це тканини плаценти людини як об'єкт кріоконсервування та клінічне застосування препаратів і похідних кріоконсервованої тканини плаценти людини, а другий – це сучасні

уявлення про етіологію та патогенез травматичних ушкоджень нижньої щелепи на тлі остеопорозу й застосування препаратів для корекції процесів репаративного остеогенезу.

Огляд літератури зроблено вдало, його матеріали підтверджують актуальність обраного напрямку досліджень й демонструють глибокі знання автором літератури останніх років щодо тематики даної дисертаційної роботи.

Зауваження до розділу.

1. Згідно останніх тенденцій термін «етіопатогенез» бажано представляти у вигляді окремих слів – «етіологія» та «патогенез».

2. Узагальнюючий висновок за всім розділом мав би бути більш переконливим та чітким з обґрунтуванням проведення досліджень саме у обраному напрямку.

3. Розділу додало б вагомості більший обсяг інформації щодо фармакологічного супроводу травматичних ушкоджень нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

**Розділ 2 «Матеріал та методи дослідження»** викладено на 10 сторінках. Матеріал надано у 2-х підрозділах (останній ще й розділено на 5 пунктів), у яких послідовно надано інформацію щодо дизайну та об'єктів дослідження (підрозділ 2.1), докладно описано методики рентгенологічних (підрозділ 2.2.1), гістологічних (підрозділ 2.2.2), біохімічних (підрозділ 2.2.3), імуноферментних (підрозділ 2.2.4) та статистичних методів дослідження (підрозділ 2.2.5).

Методи досліджень, обрані дисертантом є сучасними й інформативними, що дозволило виконати встановлені мету й завдання, отримати чіткі й достовірні результати, зробити належні висновки.

Зауваження до розділу.

1. Бажано було б зазначити структурні підрозділи та їхніх керівників, на базі яких було проведено зазначені дослідження.

2. Інформація щодо шляхів отримання тканин плаценти є зайвою через те, що для експериментів використовували готовий препарат кріоконсервованих фрагментів плаценти, а інформація щодо його характеристик, на жаль відсутня.
- 3.

**Розділ 3 «Вплив кріоконсервованої тканин плаценти людини на репаративний остеогенез в експерименті при відкритому ангулярному переломі нижньої щелепи»** викладений на 35 сторінках та складається із 3 підрозділів, перший з яких (3.1) присвячено рентгенографічним та гістологічним показникам морфогенезу регенерату у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу. У другому (підрозділ 3.2) - надано інформацію щодо рентгенологічних та гістологічних показників морфогенезу регенерату у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу після імплантації деконсервованих фрагментів плаценти. Третій підрозділ (3.3) висвітлює дані щодо рентгенологічних і гістологічних показників морфогенезу регенерату у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу, які отримували кальцію цитрат після імплантації деконсервованих фрагментів плаценти.

Зауваження до розділу:

1. До назви розділу слід було надати словосполучення «на тлі остеопорозу».
2. Узагальнення за розділом мало бути більш ґрунтовним.

**Розділ 4 «Дослідження ролі імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресів у регуляції репаративного остеогенезу у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу»** викладений на 27 сторінках та складається з 4 підрозділів, у яких послідовно надано оцінку вмісту в крові прозапальних цитокінів та факторів

росту, рівня маркерів ендотоксемії, вільнорадикального окиснення та показників про-/антиоксидантної системи, а також біохімічних показників метаболізму кісткової тканини в різні терміни репаративного остеогенезу у щурів з відкритим переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

Автором переконливо доведено, що перебіг репаративного остеогенезу супроводжується низкою імунозапальних та метаболічних змін, активність яких сягає максимуму на 14 добу. З 21 та 30 доби інтенсивність зазначених процесів зменшується, повертаючись до норми на 45 добу.

Отримані дані свідчать на користь причетності імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу до регуляції репаративного остеогенезу за умов даної змодельованої патології.

В останньому підрозділі (4.4) автором надано оцінку взаємозв'язків між біохімічними маркерами стану кісткової тканини та показниками імунозапальних процесів, оксидативного та нітрозативного стресів у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу. А для виявлення предикторів перебігу репаративного остеогенезу за умов перелому нижньої щелепи на тлі остеопорозу, дисертантом застосовано метод множинного лінійного регресійного аналізу з розробкою моделей прогнозування.

Зауваження до розділу:

1. Початок розділу має фрагменти тексту оглядового характеру та розділу 2.
2. Розміщення даного розділу перед попереднім розділом було б логічнішим.

**Розділ 5 «Вплив кріоконсервованої тканини плаценти та кальцію цитрат на імунозапальні процеси, оксидативний та нітрозативний стреси, ендотоксемію та стан кісткової тканини у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу»** викладений на 26 сторінках та складається з 3 підрозділів. Оцінку було проведено за вмістом в сироватці крові



прозапальних цитокінів та факторів росту (підрозділ 5.1), за рівнем в крові маркерів ендотоксемії, вільнорадикального окиснення та показників проантиоксидантної системи (підрозділ 5.2) та за біохімічними показниками метаболізму кісткової тканини (підрозділ 5.3).

Дисертантом доведено, що комбіноване застосування кріоконсервованої тканини плаценти та кальцію цитрату має більш потужну остеопротекторну дію, яка до того ж розвивається на більш ранніх термінах експерименту, ніж за умов застосування лише кріоконсервованої тканини плаценти.

Зауваження до розділу.

1. Початок розділу має фрагменти тексту оглядового характеру та розділу 2.

**Розділ «Аналіз та узагальнення результатів дослідження»** викладено на 21 сторінці. В розділі не тільки стисло наведено отримані автором результати, а й висловлені особисті погляди на питання, що вивчалися.

Загалом розділ написаний логічно, матеріал викладено послідовно, з наведенням вагомих аргументів. Проведені наукові дослідження представлені у повному обсязі. Автором також запропоновано схему, що відображає механізми впливу остеопротекторної дії комбінованого застосування препаратів кріоконсервованої тканини плаценти та кальцію цитрату, але до її назви додано слово «молекулярні», з яким важко погодитись. Ще одним зауваженням до розділу можна вважати відсутність порівняння власних даних з даними інших дослідників.

**Висновків** шість. Вони відповідають завданням та відображають основний зміст дисертації.

Зауважень немає.

**Список використаних джерел літератури** складено з 221 найменування сучасних та класичних літературних джерел вітчизняних та іноземних авторів (з них 135 – кирилицею і 86 – латиницею), серед яких частка датованих раніше 2009 року не перевищує 10%, а до 2000 – 4%.

Згідно існуючих вимог у додатках дисертації розміщено список опублікованих праць, у яких викладено основні результати дисертації та які засвідчують апробацію її матеріалів (додаток А), та акти впровадження (додатки Б).

### **Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.**

Матеріали та основні положення дисертаційної роботи Ліхницького Олексія Олексійовича повністю відображено у 11 наукових роботах, з яких 7 статей опубліковано в наукових фахових журналах (серед них 2 входять до переліку міжнародної наукометричної бази Web of Science та 1 - до бази Scopus). В опублікованих роботах представлено всі результати, отримані дисертантом в процесі дослідження.

Автореферат у достатньому обсязі відображає зміст та результати дисертаційної роботи, є ідентичним до основних положень дисертації та оформлений згідно існуючих вимог МОН України.

Дисертаційна робота О. О. Ліхницького має незначні стилістичні й технічні похибки, невдалі словосполучення. Але зазначені зауваження і недоліки не є принциповими, мають суто дискусійний або технічний характер й рекомендаційне спрямування, тому вони не знижують наукової цінності даної дисертаційної роботи.

Також слід наголосити на тому, що отримані Олексієм Олексійовичем Ліхницьким результати мають значну теоретичну і практичну значимість як для наукової, так і практичної медицини. Деякі положення даної дисертації мають

елементи світової новизни й значення для клінічного прогнозування перебігу репаративного остеогенезу. Отримані результати, безумовно, можуть допомагати у роботі морфологів, патофізіологів, стоматологів, травматологів.

Представлена дисертаційна робота дійсно вирішує сучасне актуальне завдання, яке стосується оптимізації репаративного остеогенезу в умовах розвитку експериментального травматичного процесу на тлі остеопорозу шляхом обґрунтування можливості використання кріоконсервованої тканини плаценти людини у поєднанні із препаратом кальцію.

*У порядку дискусії прошу Вас відповісти на такі запитання:*

1. Чому Вами обрано модель відкритого, а не закритого перелому?
2. Чим можна пояснити те, що для проведення експерименту Вами було обрано лише самців щурів?
3. Який чинник є ключовим, на Вашу думку, у поєднаному впливі на остеогенез кріоконсервованої тканини плаценти та препарату кальцію?

### **ВИСНОВОК**

Отже, дисертаційна робота Ліхницького Олексія Олексійовича «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження)» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина є завершеною працею, виконання якої дозволило отримати нові науково-обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують важливе наукове завдання сучасності щодо пошуку нових методологічних і методичних підходів до корекції процесів репаративного остеогенезу кісткової тканини щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

За актуальністю теми, методичним рівнем її розробки, науково-практичним

значенням отриманих результатів дисертаційна робота Ліхницького Олексія Олексійовича «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження)» відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р., № 567 (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 та № 1159 від 30.12.2015 року) стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина.

Офіційний опонент:  
завідувач кафедри стоматології  
Харківського національного  
медичного університету МОЗ України,  
доктор медичних наук, професор



Соколова І.І.