

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **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 до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина

1. Актуальність обраної теми дисертації

Переломи нижньої щелепи посідають чільне місце серед усіх пошкоджень кісток щелепно-лицевої ділянки і, за даними різних авторів, складають від 60 % до 90 % випадків від загальної кількості пошкоджень кісток даної зони. Причому, кількість таких переломів щелепи в останні роки збільшується, їх клінічний перебіг часто є достатньо важким, частота ускладнень є високою (10-40%), а контингент хворих складається, в основному, з молодих осіб працездатного віку, що надає проблемі лікування переломів нижньої щелепи не тільки важливого медичного, але й вагомого економічного та соціального значення.

Не зважаючи на те, що проблема лікування та реабілітації хворих з переломами нижньої щелепи завжди були і залишаються актуальними, такими, що привертають постійну увагу як лікарів-практиків, так і науковців, дослідників, ціла низка питань залишається не вирішеною у тому обсязі, який потребує сучасний розвиток медицини. Насамперед, це стосується необхідності удосконалення методик репозиції та фіксації кісткових фрагментів при таких переломах, ефективного запобігання можливих ускладнень, насамперед – запального характеру, у тому числі і післяопераційних. Актуальною є і проблема лікування переломів нижньої щелепи у пацієнтів з порушенням репаративних можливостей остеогенезу на фоні остеопорозу кісток нижньої щелепи внаслідок нестачі кальцію.

Недостатня ефективність традиційних методів лікування цілої низки захворювань викликає необхідність пошуку нових методів, методик їх лікування. Зважаючи на те, що покращення результатів лікування переломів кісток шляхом вдосконалення методик репозиції та утримання їх відламків є практично вичерпаним, актуальним постає використання у процесі такого лікування новітніх розробок та методик клітинної біології.

В останні роки, завдяки науково-практичним розробкам як закордонних, так і вітчизняних дослідників та фахівців практичної медицини в галузі кріобіології достатньо широкого застосування знайшло використання в лікувальній практиці кріоконсервованої плацентарної тканини людини, до складу якої входить ряд біологічно активних речовин, які сприяють процесам репарації, підвищенню резистентності до гіпоксії, мають виражений стимулюючий вплив на органи та системи реципієнтів.

Зважаючи на вказане, дисертаційна робота Ліхницького Олексія Олексійовича, яка якраз і присвячена експериментальному обґрунтуванню застосування препарату кріоплаценти людини для корекції репаративного

остеогенезу нижньої щелепи при її ангулярному переломі в умовах остеопорозу, є, безсумнівно, актуальною як для теоретичної, так і для практичної медицини.

Робота виконана в Інституті кріобіології і кріомедицини НАН України в рамках відомчої НДР «Вплив кріоконсервованої тканини плаценти людини для корекції репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів на тлі остеопорозу» (№ державної реєстрації: 0118U003454).

2. Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в опублікованих працях.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень та висновків дисертаційної роботи Ліхницького Олексія Олексійовича не викликають жодних сумнівів, що обумовлено використанням у дисертаційній роботі якісно та кількісно репрезентативного матеріалу досліджень (245 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар з масою тіла 180-200 г); коректним і кількісно достатнім розподілом тварин у групи, які відповідали меті і завданням дослідження; застосуванням класичних, загальноновизнаних методів дослідження (рентгенографічний, гістологічний, імуноферментні та біохімічні) для оцінки динаміки показників репаративного остеогенезу, вивчення структурної організації кістки та матриксу досліджуваних тканин при переломі нижньої щелепи і оцінки структурних змін у кістках під впливом кріоконсервованої тканини плаценти людини, оцінки ролі імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу та показників метаболізму кісткової тканини в сироватці крові в різні терміни репаративного остеогенезу.

Отримані результати дослідження були піддані ретельній обробці методами математичної статистики у ліцензійному програмному пакеті «STATISTICA 6.1» з використанням непараметричних методів оцінки.

Дисертантом проведені ретельне узагальнення та ґрунтовний аналіз отриманих результатів з використанням достатньої кількості посилань на наукові публікації в подібному напрямку досліджень.

Отримані результати, основні положення дисертаційної роботи достатньо оприлюднені як в наукових публікаціях, так і обговорені на фахових наукових конференціях.

Висновки дисертації базуються на отриманому автором фактичному матеріалі, є логічними, і повністю відповідають поставленій меті і визначеним завданням дослідження.

Таким чином, достовірність та ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації є незаперечними.

Ціла низка отриманих результатів та зроблених на їх основі положень та висновків дисертаційної роботи мають незаперечну наукову новизну.

Дисертантом уперше експериментально доведено і обґрунтовано ефективність сумісного застосування кріоконсервованої тканини плаценти людини та препарату кальцію цитрату для покращення репаративного остеогенезу при переломах нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

Уперше доведений стимулюючий вплив кріоконсервованої тканини плаценти на проліферативні процеси та диференціювання клітинних та тканинних

компонентів регенерату кістки.

Виявлено, що лікування ангулярних переломів нижньої щелепи шляхом уведення комбінації препарату кріоконсервованої плаценти людини і препарату цитрату кальцію має високий остеопротекторний потенціал, позитивний вплив на прискорення утворення остеїдної тканини та на новоутворення кісткових балок із виникненням активних ділянок мінералізації, при чому процеси остеорепарації проходять більш динамічно, на якісно новому рівні.

Вперше встановлено, що введення кріоконсервованої тканини плаценти і препарату кальцію цитрат тваринам з переломами нижньої щелепи на фоні остеопорозу призводить до зменшення поширеності і ступеня вираженості патоморфологічних проявів у кісткових регенератах.

Результати та основні положення дисертаційного дослідження повністю викладені в 11 наукових публікаціях, з яких: 7 статей – у фахових наукових журналах (у тому числі 3 – у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз Web of Science та Scopus) та 4 публікації в матеріалах робіт фахових вітчизняних та закордонних наукових конференцій.

3. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Отримані результати дослідження доповнюють існуючі знання та надають нових важливих відомостей стосовно процесів репаративного остеогенезу при переломах нижньої щелепи, зокрема і в умовах остеопорозу, доповнюють відомості про механізми та ефекти біологічного впливу препарату кріоконсервованої плаценти людини, що має важливе теоретичне значення для медицини в цілому та кріомедицини зокрема.

Результати проведених експериментальних досліджень ефективності застосування комбінації препаратів кріоконсервованої плаценти людини та препарату цитрату кальцію з метою покращення процесів репаративного остеогенезу, зменшення поширеності і ступеня вираженості патоморфологічних проявів при переломах нижньої щелепи і зроблені на їх ґрунті висновки мають вагомое практичне значення, насамперед, в діяльності лікарів-травматологів, фахівців з хірургічної стоматології.

Результати досліджень впроваджені в лекційні курси та практичні заняття кафедр гістології, фармакології, променевої діагностики, променевої терапії та онкології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; гістології, цитології та ембріології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»; гістології та ембріології ВДНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

4. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації.

Структура та оформлення дисертації та її автореферату відповідають «Основним вимогам до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України. Роботу викладено українською мовою на 206 сторінках. Основний заліковий текст склав 144 сторінки. Дисертація складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, вступу, розділу огляду літератури, розділу матеріалів і методів

дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація інформативно проілюстрована 40 рисунками та 40 таблицями.

В анотації, відповідно до існуючих вимог, українською та англійською мовами надані найбільш важливі результати дослідження та виділена їх новизна наданий список публікацій здобувача за темою дисертації з поділом на наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації та наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

У переліку умовних позначень представлені усі умовні позначення з їх розшифровкою, які використав дисертант у тексті дисертації.

Вступ викладений на 8 сторінках, містить усі необхідні складові, а саме: обґрунтування актуальності обраної теми дисертації; зазначення зв'язку роботи з науковими програмами; формулювання мети та завдань дослідження; визначення об'єкту та предмету дослідження, перелік використаних методів дослідження з поясненням необхідності їх застосування; формулювання наукової новизни та практичного значення отриманих результатів; зазначення особистого внеску здобувача; перелік наукових конференцій, де були викладені та обговорені отримані результати та оприлюднені основні положення роботи; надання відомостей щодо публікацій дисертанта за матеріалами дисертації, структури та обсягу дисертації.

Розділ 1. “Плацентарна терапія як перспективний напрямок сучасної кріомедицини (огляд літератури)” викладений на 19 сторінках і складається з трьох підрозділів. У першому підрозділі дисертант наводить та аналізує наукові літературні дані щодо тканини плаценти людини, як об'єкту кріоконсервування, характеризує основні біоефекти складових плаценти людини при уведенні в організм. У другому підрозділі надані відомості з клінічного застосування кріоконсервованої тканини плаценти людини, насамперед, зважаючи на її властивості до покращення регенерації тканин, протизапального та імунокорегуючого впливу. В третьому підрозділі розглянуті сучасні уявлення про етіопатогенез травматичних ушкоджень нижньої щелепи на тлі остеопорозу і застосування препаратів для корекції процесів репаративного остеогенезу.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» викладений на 11 сторінках, складається з двох підрозділів і містить 2 таблиці. У першому підрозділі автором докладно описані загальна методика та об'єкти дослідження, розподіл тварин по групам дослідження, методики отримання плаценти та експериментального остеопорозу і відкритого ангулярного перелому нижньої щелепи у щурів, наведене посилання на рішення комітету з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України про відповідність проведених досліджень основним вітчизняним та міжнародним біоетичним та правовим нормам. У другому підрозділі описані застосовані методи дослідження та математичної статистичної обробки отриманих результатів. Усі описані методи досліджень є загальноновизнаними, необхідними і достатніми для досягнення мети дисертаційного дослідження.

Результати власних досліджень викладені в трьох розділах дисертації, в кожному з яких наприкінці наданий короткий висновок та зазначені публікацій

дисертанта, в яких викладені матеріали даного розділу.

Розділ 3 “Вплив кріоконсервованої тканини плаценти людини на репаративний остеогенез в експерименті при відкритому ангулярному переломі нижньої щелепи” викладений на 35 сторінках, складається з трьох підрозділів, ілюстрований 39 рисунками.

У першому підрозділі дисертант характеризує в динаміці спостережень рентгенографічні та гістологічні показники морфогенезу регенерату в першій групі щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на фоні остеопорозу. Показано, що регенерація пошкодженої нижньої щелепи супроводжувалася вираженими процесами некрозу і секвестрації та описані основні закономірності динаміки регенераційного процесу в нижній щелепі.

У другому підрозділі надані і описані рентгенологічні та гістологічні показники морфогенезу регенерату у щурів після такого ж перелому нижньої щелепи в умовах остеопорозу, але на фоні імплантації деконсервованих фрагментів плаценти людини. Автор робить висновок щодо вираженої стимулюючої дії препарату кріоконсервованої тканини плаценти, переважно на пізніх стадіях регенерації у вигляді більшої площі новоутвореної кісткової тканини в зоні ушкодження, в порівнянні з першою контрольною групою та зазначає, що у частини тварин відзначався стимулюючий вплив плацентарної тканини на формування провізорних тканин на окремих ділянках регенерата в ранні терміни з 14 по 21 добу.

У третьому підрозділі розглянуті такі ж рентгенологічні та гістологічні показники морфогенезу регенерату у групі щурів з переломами, які крім імплантації фрагментів плаценти отримували ще й препарат кальцію цитрату. Показано, що в такому випадку площа некротичних змін у зоні пошкодження є значно меншою, процеси остеогенезу відбуваються більш інтенсивно, зрощення фрагментів відбувається вже до 30 доби.

Розділ гарно проілюстрований 39 рисунками у вигляді інформативних, якісних гістологічних мікрофотографій та рентгенограм.

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, складається з чотирьох підрозділів, містить 21 таблицю і присвячений результатам дослідження ролі імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресів у регуляції репаративного остеогенезу у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи та остеопорозом. За отриманими даними встановлено зростання рівня прозапальних цитокінів, показників ендотоксемії, нітрозативного стресу, вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів, зростання активності прооксидантного ензиму НАДФН-оксидази та одночасне зменшення активності антиоксидантного ензиму СОД впродовж перших трьох тижнів репаративного остеогенезу з досягненням максимуму на 14-21 добу експерименту та подальшим поступовим зниженням до контрольних і підвищення показників фактора ангіогенезу та ростового фактора остеобластів на 21-30 добу після перелому з наступним швидким зниженням до рівня контролю. В даному розділі також

наводяться результати дослідження біохімічних показників метаболізму кісткової тканини та зв'язків між біохімічними маркерами стану кісткової тканини та показниками імунозапальних процесів, оксидативного та нітрозативного стресів в різні терміни репаративного остеогенезу у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

У розділі 5 "Вплив кріоконсервованої тканини плаценти та кальцію цитрат на імунозапальні процеси, оксидативний і нітрозативний стреси, ендотоксемію та стан кісткової тканини у щурів із відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу" описані такі ж показники імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресів, біохімічні показники метаболізму кісткової тканини в різні терміни репаративного остеогенезу у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи та остеопорозом на фоні уведення в організм кріоконсервованої плаценти людини та препарату кальцію цитрату. Показано, що застосування препарату кріоконсервованої тканини плаценти при переломі нижньої щелепи на тлі остеопорозу стримує розвиток імунозапальних реакцій, стимулює процеси ангиогенезу та активує клітини остеобластичного диферону з максимальною активністю на 21-30 добу експерименту; стримує гіперактивацію вільнорадикального окиснення ліпідів, окисної деструкції протеїнів, розвиток ендотоксемії та нітрозативного стресу, відновлює баланс в системі про-антиоксидатних ензимів, має виражену остеопротекторну дію. Встановлено, що вказані ефекти стають більш виразними і розвиваються вони на більш ранніх строках експериментального дослідження за умов використання кріоконсервованої тканини плаценти в комбінації з препаратом кальцію цитрату. Розділ викладений на 26 сторінках, ілюстрований 17 таблицями.

У розділі "Аналіз і узагальнення результатів досліджень" дисертант ретельно узагальнює результати проведеного дослідження та проводить їх аргументоване обговорення з ґрунтовним аналізом та посиланнями на результати, отриманими іншими дослідниками. Розділ викладений на 21 сторінці, містить один рисунок.

Висновки. Узагальнюючий та 6 окремих **висновків** дисертаційного дослідження є логічним підсумком усього проведеного дослідження, отриманих результатів. Висновки є достатньо обґрунтованими, відповідають меті й завданням дослідження та відображують основний зміст роботи.

Список використаних джерел наукової літератури містить 221 публікацію, з яких 135 викладені кирилицею та 86 – латиницею.

Два додатки містять наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації та наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації; акти впровадження результатів дисертаційного дослідження у навчальний та науково-педагогічні процеси, лекційні курси кафедр вищих державних медичних навчальних закладів України (загалом 6 актів впровадження).

Таким чином, дисертація побудована за класичною схемою, містить усі необхідні розділи і в цілому є завершеною науковою працею.

Зміст автореферату ідентичний основним положенням дисертації та

разом з 11 науковими публікаціями повністю відображає основний зміст роботи.

5. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Результати дисертаційного дослідження «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження)» рекомендуються для використання фахівцями з кріобіології та кріомедицини; в науковій та практичній діяльності кафедр хірургічного профілю, морфологічних кафедр, кафедр радіології, променевої діагностики та променевої терапії вищих медичних навчальних закладів; в науково-дослідницьких розробках співробітниками науково-дослідних установ; науковцями, викладачами під час написання монографій, публікацій у такому напрямку досліджень та рекомендуються до урахування в практичній медицині, насамперед – лікарями-травматологами, фахівцями з хірургічної стоматології.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації.

Принципових недоліків і зауважень у змісті та оформленні дисертації не виявлено. Деякі зауваження, що виникли в процесі рецензування, не впливають на загальну позитивну оцінку роботи:

1. Не зовсім зрозумілим є розміщення в розділі матеріалів та методів дослідження таблиці 2.2 в якій наведена загальновідома рентгеносеміотика місцевих та загальних структурних змін у кістковій тканині при переломах кісток.

2. Недоцільним є використання аббревіатур скорочень у висновках дисертації. Це ускладнює їх сприймання.

3. У списку наукової літератури 161, 171 і 189 джерела розташовані не в алфавітному порядку.

4. Текст дисертації містить поодинокі орфографічні помилки, окремі невдалі стилістичні вислови та друкарські помилки (зокрема, на стор. 50 «Сироватку отримували шляхом центрифугуванням крові...», вірно «...центрифугування...»; на стор. 27 «кріоконсевація», вірно «кріоконсервація»; на стор. 30 «плавлення льду», вірно «плавлення льоду»; на стор. 144 «Постає питання пошуку препаратів, ... які у перерахунку на людину були б... - невдало сформульований вислів).

В порядку дискусії прошу відповісти на деякі запитання:

1. Що відбувалося з відкритими фрагментами кістки після завдання перелому в експерименті? Чи проводили їх репозицію, фіксацію, іммобілізацію тощо чи тільки ушивали рану в місці перелому?

2. Чому для дослідження динаміки ангулярного перелому нижньої щелепи обрані саме терміни 7, 14, 21, 30 та 45 доба після перелому?

3. Чому при уведенні в організм щурів деконсервованої тканини плаценти людини була обрана доза саме 200 мг на одну тварину?

7. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Вважаю, що дисертаційна робота Ліхницького Олексія Олексійовича на тему: «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі

остеопорозу (експериментальне дослідження)» є завершеною самостійною актуальною науковою роботою, яка виконана на сучасному науково-методичному рівні й містить раніше не захищені наукові положення та теоретичні узагальнення, що у сукупності вирішують важливе наукове завдання встановлення та розробки в експерименті нових методів корекції процесів репаративного остеогенезу кісткової тканини при переломах нижньої щелепи на тлі остеопорозу, в умовах розвитку деструктивних, імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу. Отримані експериментальні дані щодо особливостей протікання процесів, які відбуваються в ушкодженій кістковій тканині, ефективності застосування при даній патології кріоконсервованої тканини плаценти в комбінації з препаратами кальцію мають незаперечне теоретичне та практичне значення для медицини, насамперед в галузях кріомедицини, травматології, хірургічної стоматології.

За актуальністю, об'ємом та методологічним рівнем проведеного дослідження, рівнем теоретичних узагальнень, науковою новизною та практичною значимістю дисертаційна робота Ліхницького Олексія Олексійовича на тему: «Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження)» повністю відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, згідно п.11 „Порядку присудження наукових ступенів” Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року (зі змінами, внесеними Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р., № 567 від 27.07.2016 р. та наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій»), а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 - кріомедицина.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
Української медичної стоматологічної академії,
лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки,
доктор медичних наук, професор **В. І. Шепітько**

