

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувача кафедри травматології, ортопедії і невідкладної військової хірургії Івано-Франківського національного медичного університету, доктора медичних наук, професора СУЛИМИ Вадима Станіславовича на дисертаційну роботу «Роль мезенхімальних стовбурових клітин в активації репаративного остеогенезу (клініко-експериментальне дослідження)», що подана до захисту в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.122 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І.Пирогова, яка створена відповідно до наказу ректора ЗВО ВНМУ ім.М.І.Пирогова №61 від 03 червня 2024 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім.М.І.Пирогова №10 від 31 травня 2024 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації РЯБОШАПКА ОЛЕГА МИКОЛАЙОВИЧА на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Ступінь актуальності обраної теми.

Відомо, що процес загоєння перелому є складним і залежить від багатьох екзогенних та ендогенних чинників. В процесі зрощення деякі з них зумовлюють порушення остеогенезу з виникненням ускладнень. Тому тривають пошуки не тільки механічного впливу (надійного знерухомилення кісткових фрагментів), а і ефективного медикаментозного, іншого впливу на процес зрощення. Одним з перспективних напрямків активізації кісткової репарації вважається використання клітинних технологій. Застосування «дорослих», індукованих плюрипотентних, ембріональних стовбурових клітин широко вивчається науковцями і навіть з клінічним провадженням. Культивування, зберігання, ідентифікація, шляхи застосування – це ще не весь перелік питань, котрі потребують досконалого вивчення. Розв'язання цих завдань безумовно дозволить покращити ефективність та функціональні

результати лікування травмованих. Цим і зумовлена актуальність тематики, обраної дисертантом, який за мету наукового дослідження взяв: проаналізувати вплив мезенхімальних мультипотентних стовбурових клітин, отриманих з Вартонових драглів, на репаративний остеогенез в ділянці перелому кісток в умовах експериментальної моделі у тварин та при лікування травмованих з вогнепальними переломами.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Дисертаційне дослідження виконане відповідно до планів науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є фрагментом науково-дослідної роботи “Удосконалення методів діагностики, лікування та реабілітації пацієнтів з травмами та захворюваннями опорно-рухового апарату” (№ державної реєстрації: 0123U102765 від 02.06.2023).

Науковий рівень дисертації є достатньо високим. Здобувач застосував високоінформативні сучасні методи досліджень. Результати дослідження проаналізовані методами математичної статистики. На достатньому рівні виконані аналіз та узагальнення результатів отриманих в дослідженні. Висновки дисертації відповідають поставленим завданням та є логічним підсумком виконаної роботи. Дисертація загалом виконана на високому науковому та методологічному рівні, відповідному вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Наукові публікації здобувача опубліковані як у фахових журналах України, так і у вигляді тез матеріалів міжнародних науково-практичних конференцій. Наукові публікації дисертанта відобразили основні наукові досягнення та практичні здобутки, що отримані при дисертаційному дослідженні.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

Автору належить ідея та реалізація експериментального дослідження, інтерпретація та узагальнення отриманих експериментальних та клінічних результатів.

Вперше в експерименті після введення стовбурових клітин з Вартонових драглів пупкового канатика в ділянку створеної моделі кісткового дефекту автор виявив суттєво активніші процеси репаративного остеогенезу протягом усіх періодів спостереження, у порівнянні з групою контролю. Так, для прикладу, вже на 7 добу експерименту автор виявив, окрім кількісного зростання мало- та недиференційованих клітин, подібних до мононуклеарів, макрофагальних клітин та мезенхімальних фібробластоподібних клітин (на 25,3 % більша кількість функціонально-активних остеобластів), збільшення на 19,4 % площі кісткових трабекул у місці перелому в порівнянні з контрольною групою, що свідчили про перші ознаки якісного формування кісткового регенерату. Доведені доказові переваги дозволили автору стверджувати про активний вплив мезенхімальних стовбурових клітин на репаративний процес на всіх етапах спостереження.

Далі, у відповідності до завдань дослідження, автор вперше переконливо довів ефективність використання мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні травмованих зі складними переломами кісток з вогнепальними дефектами у яких спостерігав кращі ознаки регенерації кісткової тканини та зменшення випадків незрощень в порівнянні з традиційними методами лікування. Це дало змогу автору стверджувати переваги клітинної терапії переломів.

Автор виконав детальну статистичну обробку результатів експериментального дослідження та клінічного обстеження тематичних хворих. Аналіз та узагальнення матеріалу автор виклав у відповідному розділі і сформульованих висновках з практичними рекомендаціями.

4. Наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Експериментально-клінічний формат дисертаційної роботи обраний та побудований методологічно правильно і базується на достатній для наукового дослідження кількості експериментальних тварин (64 щурів лінії «Вістар», яким виконали остеотомію перелому великогомілкової кістки) та достатній кількості пролікованих хворих (30 осіб) з відкритими вогнепальними переломами довгих кісток кінцівок, де автор проаналізував репаративний остеогенез.

Дисертаційна робота виконана із застосуванням сучасних методів досліджень, які відповідають поставленій меті. У дисертаційній роботі застосовані експериментальний, гістологічний методи, з обрахунком площинних гістоморфометричних параметрів, та клініко-рентгенологічний метод, які адекватно обрані дисертантом відповідно до поставлених завдань дослідження з наступним статистичним обґрунтуванням достовірності отриманих результатів. Висновки дисертації аргументовані, відображають результати дослідження і повною мірою відповідають визначеним завданням.

Отримані результати й основні положення дисертації викладені та обговорені у наукових публікаціях у наукових виданнях та у матеріалах фахових науково-практичних конференцій.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

У ході дослідження з використання мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів у лікуванні травмованих з переломами автор етапно застосував наступні науково обґрунтовані методи. Бібліосемантичний метод дозволив оцінити актуальність теми та здійснити аналіз попередніх наукових

робіт. Наступним етапом був експериментальний метод моделювання перелому кістки у дослідних тварин. Гістологічний аналіз забезпечив детальне вивчення механізмів дії мезенхімальних стовбурових клітин на процеси репаративного остеогенезу, з морфометричним дослідженням ключових показників. З метою об'єктивної оцінки результатів було застосовано інструментальний метод – рентгенологічне дослідження впливу клітин на загоєння перелому у реальних клінічних умовах. Дослідження завершилося клінічним обстеженням пацієнтів та детальним статистичним аналізом, який підтвердив об'єктивність отриманих результатів.

Вищевикладене дозволяє стверджувати, що автор оволодів методологією наукової діяльності в обсязі, достатньому для присудження ступеня доктора філософії.

6. Теоретичне і практичне значення отриманих результатів дослідження.

Дисертаційне дослідження застосування мезенхімальних стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини при переломі вагоме для практичної медицини, зокрема в галузях ортопедії та хірургії. Використання цих клітин дозволяє покращити процес регенерації кістки та оптимізувати тривалість зрощення, що особливо важливо для пацієнтів зі сповільненою регенерацією. Крім того, застосування мезенхімальних стовбурових клітин може зменшити ризик повторних переломів та покращити міцність зрощення. Це особливо актуально для пацієнтів з ознаками порушення мінеральної щільності кісткової тканини.

Загальним акцентом дослідження є підтвердження ефективності застосування мезенхімальних стовбурових клітин у клінічній медицині для оптимізації процесу зрощення переломів, скорочення тривалості лікування та покращення якості життя пацієнтів.

Результати дисертаційного дослідження використовуються в навчальному процесі кафедри травматології та ортопедії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, а також впроваджені у практику хірургічного відділення Університетської клініки Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, травматологічного пункту Комунального некомерційного підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги», відділення травматології та ортопедії цієї самої лікарні, а також відділення ортопедо-травматології Науково-дослідницького інституту осіб з інвалідністю.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому.

Дисертаційна робота викладена у загальноприйнятому форматі на 149 сторінках машинописного тексту, що містить список літератури та додатки. Текст ілюстровано 32 рисунками, вміщує 4 таблиці.

Список літератури складають 216 джерел.

Вступ висвітлює актуальність, об'єкт та предмет дослідження, мету та завдання, відображає новизну, практичну вагомість наукових доробок та особистий внесок автора.

Перший розділ містить епідеміологію (сучасні кількісні показники переломів), патофізіологію остеогенезу з врахуванням факторів, котрі сприяють незрощенню. Тут також автор детально висвітлив поняття клітинних технологій та сучасні можливості клітинного впливу мезенхімальних стовбурових клітин на активізацію процесів кісткової регенерації.

В другому розділі деталізований дизайн дослідження, використані матеріали і відповідні методи експериментального (гістологічного і морфометричного) і клінічного (клініко-радіологічного) дослідження. Усі етапи проведеного експериментального дослідження відповідали етичним нормам поводження з тваринами з дотриманням рекомендацій і вимог Європейської конвенції захисту хребетних тварин. Експериментальні, клінічні

та радіологічні методи узгоджені з методом статистичної обробки отриманих результатів, які відповідають сучасному рівню та завданням роботи.

Третій розділ висвітлює гострий експеримент з вивчення особливостей остеогенезу при травматичному пошкодженні великогомілкової кістки експериментальної тварини (щура) в порівнянні основної групи під впливом мезенхімальних стовбурових клітин джерелом яких є Вартонові драгли та контрольної - без введення суспензії клітин.

Автор отримав доказові факти переваги клітинної технології впливу на остеогенез за показниками площі кісткових трабекул, міжтрабекулярних просторів, співвідношення площ, товщиною кісткових трабекул, кількістю контактів трабекул з кортексом, середньою кількістю остеоцитів на кісткових трабекулах, кількістю порожніх остеоцитарних лакун та кількістю функціонально активних остеобластів.

В четвертому розділі автор висвітлив результати порівняльного аналізу при лікування пацієнтів з переломами кісток, яких лікували місцевим введенням стовбурових клітин з Вартонових драглів пупкового канатика. Ефективність методу автор доводить наведеними в розділі клінічними випадками.

П'ятий розділ, як підсумок дисертаційного дослідження, містить аналіз та узагальнення отриманих експериментальних і клінічних результатів.

Висновки повністю відповідають поставленим задачам, закономірно випливають з виконаних досліджень та висвітлюють основні результати виконаної дисертаційної роботи.

Дисертація оформлена у відповідності до вимог та повністю розкриває її основні положення.

8. Рекомендації щодо практичного використання результатів дисертації в практиці.

Результати, отримані в ході дисертаційного дослідження, рекомендовано до використання в практичній діяльності хірургів, ортопедів та травматологів. та рекомендуються до подальшого впровадження в навчальний процес, лекційні курси та практичну роботу кафедр травматології та ортопедії закладів вищої освіти України.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.

У структурному й змістовному форматі дисертація відповідає чинним вимогам атестаційної комісії МОН України до дисертаційних робіт.

Після ознайомлення з дисертаційною роботою виникли деякі зауваження:

1. В анотації, узагальнюючій частині дисертації, висновках описові терміни переваг (для прикладу: «краще», «значне покращення», «зниження випадків», «позитивний вплив», «більші значення», «істотно активніші», «висока ефективність», «великий потенціал») слід супроводжувати числовими виразами і їх доказовістю (р<р>).

2. На стор. 5. слід перелічити «традиційні» методи лікування. На стор. 84, 98 – застаріла назва «трубчасті» кістки слід замінити на «довгі». Наступна незрозуміла фраза потребує переробки «на третій місяць лікування більшість пацієнтів з експериментальною групою демонструвала...». Є основна і контрольна групи.

3. У дисертації зустрічаються граматичні помилки та стилістичні погрішності, повторення слів, сленгові вирази «залікованої кістки», «стикатися з ускладненнями», слово «роздроблені» переломи замінити на крупно- або дрібноуламкові.

Зазначені зауваження не є принциповими, тому вони не знижують наукової цінності дисертаційної роботи.

Запитання:

1. Перший пасаж для культивування мультипотентних клітин виконували з додаванням 10% фетальної бичачої сироватки. Потребує пояснення: чи другий пасаж, з якого використовували суспензію для введення в місце перелому експериментальній тварині, людині може містити залишкові елементи фетальної бичачої сироватки?

2. Яким чином передбачали або запобігали канцерогенних ефектів в короткотривалому (28 днів) експериментальному та віддаленому клінічному періоді?

3. Прошу автора пояснити яким чином проводилось кількісне визначення клітин для введення в модель перелому великогомілкової кістки експериментальної тварини. Яким чином визначена корисна доза мезенхімальних стовбурових 30×10^6 достатня для покращення ефектів формування кісткового мозоля людини.

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Дисертаційна робота перевірена на подібність тексту програмним засобом «StrikePlagiarism» та виявлено ступінь оригінальності роботи 86,66%. З боку дисертанта порушень правил академічної доброчесності не виявлено. Робота є оригінальною і самостійною.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Таким чином, за актуальністю ррозв'язаної наукової задачі, новизною, науковометодичним рівнем виконання роботи, практичним значенням, кількістю публікацій, рівнем впровадження представлена до захисту дисертація Рябошапка Олега Миколайовича на тему: «Роль мезенхімальних стовбурових клітин в активації репаративного остеогенезу (клініко-експериментальне дослідження)» відповідає вимогам Порядку присудження

ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 зі змінами, внесеними згідно з Постановою КМ від 21 березня 2022 р. № 341, від 19 травня 2023 р. № 502 та від 03 травня 2024 р. № 507 та оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент завідувач кафедри
травматології, ортопедії і невідкладної
військової хірургії Івано-Франківського
національного медичного університету,
доктор медичних наук, професор

В.С. Сулима