

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію **Тодосюк Тетяни Петрівни**
на тему: **«Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак»**
представлену на здобуття ступеня доктора філософії
зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»
галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Частота переломів довгих трубчастих кісток серед собак складає – 82–85 %, серед яких 16–25 % становлять осколкові переломи, які найчастіше зазнають ускладнення репаративного остеогенезу. Втрата осколками зв'язку зі м'якими тканинами призводить до порушення васкуляризації, що зменшує регенераторні властивості кісткової тканини. Остеопороз зумовлює зменшення міцності кісток та спотворення їх біомеханічних властивостей, що значно ускладнює технічне виконання остеосинтезу та використання різних імплантів.

Остеозаміщувальні матеріали мають відповідати низці вимог щодо остеокондуктивності, остеоіндуктивності, остеointegraційності, імунологічної толерантності та біорезорбції.

Властивості германію мають широкий спектр біологічної дії, низьку токсичність, високу біологічну активність та позитивно впливають на організм тварини в цілому. Тому вивчення питання впливу не легованої та легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки з різними фізико-хімічними характеристиками на репаративний остеогенез є перспективним та важливим для остеозаміщення за осколкових переломів собак у ветеринарній ортопедії.

Актуальність теми дисертаційної роботи підтверджується тим, що дослідження виконано згідно з планом програми з підготовки доктора філософії та є складовою виконання науково-дослідної роботи у межах завдань науково-технічної державної теми НАН України.

Зв'язок роботи з державними (галузевими) програмами, планами, темами. Робота виконувалась у відповідності до робочої програми доктора філософії (2019–2023 рр.) та науково-технічної державної теми «Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави» та розпорядження Президії НАН України від 16.04.2019 р. № 255. Про виконання науково-дослідної роботи № 0119U102083 «Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях» відповідно до цільової науково-технічної програми НАН України.

Наукова новизна досліджень і отриманих результатів дисертації. У дисертаційній роботі Тодосюк Т.П. сформульовано ряд нових наукових положень у пріоритетному клініко-патогенетичному обґрунтуванні остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у

собак для відновлення репаративного потенціалу кісткової тканини і прискорення їх консолідації.

Зокрема, здобувачем:

1. Встановлено, що за клініко-рентгенологічними, макро- і гістоморфологічними та біохімічними критеріями кальцій-фосфатна кераміка за її легування іонами германію в умовах остеозаміщення модельних дефектів, як губчастої, так і компактної кісткової тканини у кролів, поряд з остеоіндуктивними проявляє виражені остеоіндуктивні та підвищені остеоінтеграційні властивості.

2. Доведено, що остеоіндуктивна дія легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки виражається в підвищеній міграції в зону кісткового дефекту остеогенних клітин, ранніх і потужних неоангіогенезу та остеобластичній реакції (14-а доба) на фоні помірного і обмеженого запально-резорбтивного процесу, в інтенсивному формуванні та ремоделюванні пластинчастої кісткової тканини (30-а доба) навколо і у порах остеозаміщувального матеріалу, а також з боку ендосту з поступовою резорбцією його гранул (60-а доба), що також відображає посилені остеоінтеграційні процеси. При цьому виражена, з наростанням до 30-ої доби, ендостальна реакція у зоні кісткового дефекту є свідченням його консолідації близької до первинного натягу.

3. Заразом доведено, що патохімічним відображенням остеоіндуктивних і остеоінтеграційних властивостей легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки є, узгоджені із гістоморфологічною оцінкою кісткових регенератів, піки активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази на 14-у і 30-у добу та тартрат-резистентної кислотної фосфатази тільки на 14-у добу (за контрольної протягом 14–60-ої), раннє (до 30-ої доби) відновлення активності природного антикоагулянта протеїна С, достовірно вищий у період 14–30-ої доби рівень у крові оксиду азоту і помірний гострофазного церулоплазміну та імунокомплексоутворення, що засвідчує менший рівень посттравматичних катаболічних процесів і обмеження запально-резорбтивної фази, ранні неоангіогенез і остеогенез та урівноважений перебіг остеоімунологічних реакцій.

4. Вперше доведено, що, встановлені остеозаміщувальні характеристики кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, реалізуються і у разі дефектів трубчастих кісток у кролів з кортикостероїд-індукованим остеопорозом, у яких кістковий регенерат формується в 2,7 рази ($p < 0,001$) швидше, ніж за природнього під кров'яним згустком. При цьому зменшуються рівні гіпокальціємії та гіперфосфатемії, менший в 1,3–1,7 рази ($p < 0,001$) рівень імунокомплексоутворення, більший в 1,3 рази ($p < 0,001$) уміст у сироватці крові оксиду азоту, відновлюється на 14-у добу активність протеїну С, а динаміка активності фосфатаз відображає ранню та інтенсивну остеогенну реакцію.

5. Вперше клініко-експериментально обґрунтовано, що остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою після накісткового остеосинтезу за складних осколкових переломів довгих

трубчастих кісток у собак за клініко-рентгенологічними критеріями прискорює їх консолідацію в 1,5 раза ($p < 0,001$), порівняно з використанням нелегованої кальцій-фосфатної кераміки та супроводжується динамічним усуненням еритроцитопенії, меншим рівнем лейкоцитарної реакції і церулоплазміну та вищим рівнем альбуміну, що свідчить про менший ступінь запально-деструктивних процесів.

б. Заразом встановлено, що патохімічна фаза репаративного остеогенезу в цьому разі супроводжується помірною і швидкоплинною реакцією гострої фази, динамічним усуненням гіперкоагуляційного стану, інтенсивним посиленням ендотеліальної функції та меншим рівнем імунокомплексоутворення, сбалансованою динамікою активності біохімічних маркерів кісткового метаболізму, що свідчить про оптимізований перебіг репаративного остеогенезу.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. Метою дисертаційної роботи було клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів трубчастих кісток у собак.

Досягнення поставленої мети стало можливим за вирішення поставлених багатопланових завдань, які мали логічне узгодження з детальним аналізом сучасного стану проблеми щодо використання низки макро- (магній) і мікроелементів (цинк, кремній, селен, стронцій) для легування кераміки, переваг кальцій-фосфатної кераміки та обранням германію для легування, формуванням дослідних груп лабораторних тварин здорових та із вторинним остеопорозом для остеозаміщення модельних кісткових дефектів трубчастих кісток нелегованою та легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою; з наступним використанням для остеозаміщення складних осколкових переломів кісток у собак.

Здобувачка методологічно вірно провела дослідження з використанням низки сучасних та класичних високоінформативних методів досліджень: клінічні, рентгенологічні, макроморфологічні, гістологічні (фарбування гематоксиліном та еозином), гематологічні (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити), біохімічні (гемоглобін, загальний білок, альбумін, глобуліни, кальцій, фосфор, активність лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту, тартрат-резистентної кислоти фосфатази, оксид азоту, дрібно- та великомолекулярні циркулюючі імунні комплекси), гемостазіологічні (протеїн С) та проведення статистичного аналізу на достатній кількості матеріалу за різних рівнів структурної організації та метаболічного статусу.

Мета роботи досягнута, її результати відповідають завданням, сформульовані наукові положення належною мірою обґрунтовані та достатньо апробовані.

Висновки логічні та є відображенням результатів досліджень, особисто проведених дисертанткою, які проаналізовані та узагальнені. Достовірність результатів досліджень підтверджується достатньою кількістю наведених у дисертації табличних, графічних матеріалів, якісних фотодокументів,

отриманих на основі рентгенограм, макро- та мікропрепаратів та результатів статистичної обробки даних.

Вищенаведене свідчить, що наукові положення, висновки та практичні рекомендації мають, в достатній мірі, теоретичне, методологічне та методичне обґрунтування.

Апробація результатів дослідження, повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових праць, зокрема 6 у виданнях, що належать до переліку наукових видань України: Науковому віснику ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету (3) та у Віснику Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького (3), а також у матеріалах і тезах конференцій (6), науково-практичній монографії: «Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин» (1).

Аналіз структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота виконана згідно чинних вимог. На початку наведені анотації (українською та англійською мовами) та список публікацій здобувачки (с. 2–15). Далі приведений зміст роботи (с. 16–17). Для зручності сприйняття термінології авторкою складений Перелік умовних позначень та скорочень (с. 18).

В розділі «**Вступ**» (с. 19–32) дисертанткою наведено обґрунтування вибору теми дослідження за аналізу та посилання на значну кількість сучасних вітчизняних та закордонних авторів, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, мета дослідження та поставленні завдання для її досягнення, об'єкт і предмет дослідження, використані методи досліджень, описано наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, наведені особистий внесок здобувача, апробація матеріалів дисертації на міжнародних, державних науково-практичних конференціях, вказано кількість наукових публікацій, структура та обсяг дисертації.

У розділі 1 «**Огляд літератури**» (с. 33–70) авторкою узагальнено літературні наукові дані з дослідження поставленої проблеми у 3 підрозділах, 4 підпідрозділах: 1.1. «Молекулярно-біологічні механізми та участь у них мінерального компонента кісткової тканини за репаративного остеогенезу»; 1.2. «Роль остеозаміщення у репаративному остеогенезі»; 1.2.1. «Принципи і засоби остеозаміщення»; 1.2.2. «Переваги кальцій-фосфатної кераміки для остеозаміщення»; 1.2.3. «Використання біоматеріалів для потреб остеозаміщення»; 1.2.4. «Біоінженерія мінеральних сполук у репаративному остеогенезі»; 1.2.5. «Леговані мікроелементами керамічні матеріали для остеозаміщення»; 1.3. «Застосування остеозаміщення у ветеринарній ортопедії»; Завершено розділ 1 підрозділом 1.4. «Висновок з огляду літератури», де наведено логічне обґрунтування необхідності детального вивчення та узагальнення властивостей легової германієм кальцій-фосфатної кераміки, зважаючи на майже відсутність інформації її застосування за остеозаміщення в тварин з посттравматичними і патологічними переломами кісток .

У розділі 2 «**Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи**» (с. 71–91) здобувачкою наведено 2 підрозділи: описано етапи проведених досліджень (2 етапи) та їх об'єм; у підрозділі 2.1. «Характеристика легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки», у якому охарактеризовано особливості виготовлення та результати досліджень мікроструктури зразків двофазної кераміки нелегованої та легованої германієм; підрозділ 2.2. «Матеріали та методи клініко-експериментальних досліджень», в якому доведені матеріали та методи для проведення клініко-експериментальних та статистичних досліджень.

Розділ 3 «**Експериментальне обґрунтування впливу імплантатів кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, на репаративний остеогенез у кролів**» (с. 92–143) структурований відповідно I етапу схеми досліджень – Модель травматичного перелому: контрольна група ГТг-700 (n=12), дослідна група ГТлГеґ-700 (n=12) (терміни дослідження – 0, 7, 14, 30, 60, 90 доба) – містить 5 підрозділів та 3 підпідрозділи: 3.1. «Клініко-рентгенологічна і макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу», де встановлено, що гідроксиапатит, легований германієм, має більш виражені остеоіндуктивні властивості порівняно з нелегованим гідроксиапатитом; 3.2. «Динаміка гістоморфологічної картини кісткових регенератів», встановлено, що, незалежно від типів кісткової тканини, кальцій-фосфатна кераміка, легована германієм, набуває виражених остеоіндуктивних властивостей з відповідним посиленням її остеointegraції; підрозділ 3.3. «Динаміка гематологічних показників», ілюстрований таблицями та діаграмами, зроблено висновок про швидкоплинну посттравматичною анемією, фізіологічним лейкоцитозом, тромбоцитозом, протягом перших 7–14 діб репаративного остеогенезу; у підрозділі 3.4. «Динаміка лейкоцитарних індексів», табличний та графічний матеріал ілюструє показники, які зумовлюють ранній розвиток остеогенних процесів; підрозділ 3.5. «Динаміка біохімічних показників крові» та підпідрозділ 3.5.1. «Макроелементи і білковий статус», показував, що остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою обмежує посттравматичні катаболічні процеси; у підпідрозділі 3.5.2. «Показники ендотеліального, антикоагулянтного, антиоксидантного та імунологічного статусу» демонструють встановлену динаміку ЦіК, що засвідчує реалізація іонами германію їх імуномодельючої дії; підпідрозділ 3.5.3. «Біохімічні маркери кісткового метаболізму» чітко корелюють з клініко-рентгенологічною, макро- і гістоморфологічною оцінкою репаративного остеогенезу за остеозаміщення ГТлГеґ-700.

Розділі 4. «**Експериментальне обґрунтування остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою за модельованих переломів кісток у кролів з остеопорозом**» (с. 144–198) структурований відповідно I етапу схеми досліджень – Модель патологічного (остеопорозного) перелому, контроль (n=9), (загоєння під кров'яним згустком), ГТлГеґ-700 (n=9) (терміни дослідження – 0, 7, 14, 30, 60 доба) – має 2 підрозділи, 5 підпідрозділів: підрозділ 4.1. «Індукція глюкокортикоїдного остеопорозу в кролів» – представлена схема формування експериментального

остеопорозу у кролів; у підпідрозділі 4.1.1. «Динаміка рентгенологічної картини скелету кролів» – спостерігали характерні для остеопорозу зміни кісткової тканини осьового скелету та вільних кінцівок – проксимальної епіфізарно-метафізарної зони стегнових кісток; підпідрозділ 4.1.2. «Динаміка гематологічних і біохімічних показників» – повідомляє, що кортикостероїдна модель остеопорозу в кролів повністю патогенетично відповідає його вторинному типу; підрозділ 4.2. «Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за кісткових дефектів у кролів з остеопорозом», підпідрозділ 4.2.1. «Клініко-рентгенологічна та макроморфологічна оцінка» – за оцінки рентгенограм встановлено, що в тварин дослідної групи за імплантації гранул кераміки, легової германієм, репаративний остеогенез перебігає з прискореною у 2,7 рази, за макроморфологічними ознаками, навіть в умовах остеопорозного процесу, остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою забезпечує оптимізований репаративний остеогенез із регульованою біодеградацією композитного матеріалу; підпідрозділ 4.2.2. «Динаміка гістологічної картини кісткових регенератів» – доведена більш рання остеобластична реакція та інтенсивний неоангіогенез; підпідрозділ 4.2.3. «Динаміка гематологічних та біохімічних показників» – таблично та графічно візуалізований більш динамічний перебіг репаративного остеогенезу за використання ГТлГеґ-700.

Розділ 5. «**Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за осколкових переломів трубчастих кісток у собак**» (с. 199–223) відображає результати II етапу схеми досліджень – ГТг-700 (контроль) (n=10), ГТлГеґ-700 (дослід) (n=10) (терміни дослідження – 0, 3, 7, 14, 30, 60 доба) – у 4 підрозділах: 5.1. «Клініко-рентгенологічна характеристика консолідації переломів» показала, що використання ГТлГеґ-700 в цілому прискорює термін консолідації навіть складних осколкових переломів у 1,5 рази; 5.2. «Динаміка гематологічних показників»; 5.3. «Динаміка біохімічних показників»; 5.4. «Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму» – за результатами представлених досліджень використання гідроксиапатитної кераміки, легової германієм, супроводжується помірним перебігом запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу, більш ранніми процесами посттравматичного ремоделювання кісткової тканини, репаративний остеогенез максимально наближається до фізіологічної регенерації за первинним натягом.

У розділі 6. «**Аналіз та узагальнення результатів досліджень**» (с. 224–243) здобувачкою наведено аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень та порівняння із літературними даними досліджень інших авторів, узагальнення результатів досліджень: за використання ГТлГеґ-700 репаративний остеогенез максимально наближається до регенерації за первинним натягом. За результатами роботи зроблено 15 висновків (с. 244–250) та 4 пропозиції виробництву (с. 251).

Список використаних джерел (с. 252–290) складено згідно існуючих вимог щодо бібліографічних посилань та містить 327 джерел, у тому числі

латиницею. **Додатки** представлено на с. 291–318, які демонструють: А – складні осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак; Б – остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак з системним остеопорозом (клінічні випадки); В – акти та картки зворотного зв'язку про впровадження матеріалів дисертаційної роботи у навчальний процес, наукові дослідження та у ветеринарну практику клінік дрібних домашніх тварин України; Г – список опублікованих праць за темою дисертації та Д – відомості про апробацію результатів дисертації.

Дотримання принципів академічної доброчесності. Під час рецензування дисертаційної роботи не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації, текстових запозичень чи інших порушень доброчесності дисертантом. Усі ідеї та положення викладені в роботі, належать авторці.

Дискусійні положення і зауваження до змісту та оформлення дисертації.

Попри високий науковий та прикладний характер результатів досліджень, до окремих змістовних та структурних частин дисертаційної роботи варто висловити певні зауваження:

1. У анотації в методах досліджень вказана методика гематоксилін та еозин, а у розділі 2 – описана методика фарбування зрізів залізним гематоксиліном Вейгерта та еозином. Це різні методики.

2. В роботі використовується некоректна термінологія: «губчаста кісткова тканина, компактна кісткова тканина» (с. 81, 105, 110, 170, 173) «грубоволокнистої кістки» (с. 106). За Міжнародною гістологічною номенклатурою є два типи кісткової тканини: ретикулофіброзна (грубоволокниста, первинна губчаста) та пластинчаста. Пластинчаста кісткова тканина може бути компактною та губчастою будови.

3. «...деформації здебільшого поперекових хребців внаслідок резорбції їх трабекулярної тканини». В організмі тварин є 4 типи тканин, серед яких відсутня трабекулярна.

4. У 4 розділі дисертації на с. 157 – використане поняття «кісткова система» не є коректним.

5. У 4 розділі дисертації на с. 173 «На 14-у добу після остеозаміщення дефектів метафізу стегнової кістки керамічним матеріалом формувалися тонкі кісткові балки, дещо міцніші в ділянці інтеграції гранул кераміки.» – є не точним вислів «дещо міцніші» – на гістопрепараті неможливо визначити міцність балок.

6. На рис. 4.15 а (с. 174) є жовта стрілка, яка відсутня в позначеннях.

7. В підписах під фото гістологічних препаратів відзначено метод фарбування як «Забарвлення гематоксилін-еозин» – необхідно уточнювати, що використаний залізний гематоксилін Вейгерта та еозин.

Висловлені побажання та зауваження, не мають принципового характеру, тому не зменшують наукової цінності та практичної значущості

результатів аналізованого дослідження і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Загальний висновок. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, містить нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачкою досліджень, які виконують конкретне наукове завдання – клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак, що має істотне значення для галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Вважаю, що дисертація Тодосюк Тетяни Петрівни на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак», за обсягом проведених досліджень, з використанням сучасних методів, науковою новизною і практичним значенням одержаних результатів, можливістю їх впровадження у виробництво, відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року «Порядку присудження ступеню доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», постанови Кабінету Міністрів України № 261 від 23 березня 2016 р. «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», а її авторка Тодосюк Тетяна Петрівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії (PhD) зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» в галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Рецензент:

доцент кафедри анатомії та гістології ім. П.О. Ковальського
факультету ветеринарної медицини
Білоцерківського національного
аграрного університету,
кандидат ветеринарних наук, доцент


Ольга БЕВЗ

«1» грудня 2023 р.

Підпис Ольги БЕВЗ засвідчую:
начальник відділу документообігу
і кадрового забезпечення




Олена ЮРЧЕНКО