

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Шевченко Світлани Миколаївни «Клініко-експериментальне обґрунтування імплантації тромбоцитарних концентратів та їх композитів із кальцій-фосфатною керамікою за переломів кісток у собак», представлену для здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Актуальність досліджень ґрунтується на тому, що жива клітина має ряд властивостей, на основі яких здійснюються функції цілого організму. Останніми десятиліттями дослідження в галузі регенеративної медицини значно поживалися. Це, зокрема, відноситься до використання стовбурових клітин різної потенції, а також плазми, збагаченої тромбоцитами, фібринового гелю, збагаченого тромбоцитами, а також БАР, які вони синтезують у регенеративній медицині. Стосовно вказаних досліджень у світі видається багато наукових журналів, наприклад «Journal of Stem Cell Research & Therapy», «Journal of Orthopaedic Research», а також в Україні «Вісник ортопедії, травматології та протезування», які індексуються найвідомішими наукометричними базами. Це пов'язано з величезним значенням досліджень з регенеративної медицини, в т.ч. ветеринарної.

Слід відмітити, що в Україні також існує значний інтерес до регенеративної ветеринарної медицини. Так, за ініціативи академіка А.Й. Мазуркевича у 2006 році було створено навчально-наукову лабораторію «Центр клітинних технологій у ветеринарній медицині», яка займається вивченням біологічних властивостей стовбурових клітин різних видів тварин, а також впливу цих клітин на регенеративні процеси в організмі тварин.

Зауважу, що дослідження плазми збагаченої тромбоцитами, а також фібринового гелю, збагаченого тромбоцитами у нашій країні більшою мірою стосуються все ж гуманної медицини. Саме тому, експерименти, які проводяться у Білоцерківському аграрному університеті під керівництвом видатного вченого у ветеринарній хірургії, академіка НААН України Рубленка М.В. за безпосередньої участі Шевченко С.М. є піонерськими та надзвичайно актуальними.

Слід відмітити, що дисертаційна робота виконувалась у межах програми з підготовки доктора філософії (2018–2022 рр.) та є складовою науково-дослідної роботи «Доклінічні дослідження виробів з розроблених біоматеріалів» (договір № 48/1 від 27.08.2019 р.) у межах завдань науково-технічної державної теми НАН України «Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантатів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток

після поранень в бойових діях» № 0119U102083, у якій дисертантка була виконавцем підрозділу.

Результати досліджень, представлені в дисертації, роблять значний внесок у цілий ряд фундаментальних та прикладних галузей науки, зокрема цитологію, імунологію, гістологію, патологію, регенеративну медицину, звичайно ветеринарну хірургію. Саме тому, на мою думку, встановлені дисертантом закономірності є надзвичайно цінними, в першу чергу, для регенеративної ветеринарної медицини, яка спрямована на часткову або повну компенсацію функцій пошкоджених тканин.

Наукова новизна одержаних результатів.

Новизна проведених досліджень і отриманих наукових результатів полягає у пріоритетному клініко-патогенетичному обґрунтуванні імплантації різних форм аутотромбоцитарних концентратів та остеозаміщення композитом аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами, із кальцій-фосфатною керамікою для оптимізації консолідації переломів довгих трубчастих кісток у собак.

Встановлено, що найбільша концентрація тромбоцитів у плазмі крові за одержання різних форм збагаченого цими клітинами аутофібрину досягається за режимів центрифугування 100g – 3хв та 400 g – 10 хв, тоді як подальше збільшення величини його відцентрової сили супроводжується динамічним зменшенням їх умісту.

Доведено, що композитне остеозаміщення за модельних переломів у кролів поряд з ранньою остеобластичною реакцією супроводжується інтенсивним неоангіогенезом з формуванням елементів пластинчастої кістки вже на 14-ту добу і поступовою біодеградацією кальцій-фосфатної кераміки та утворенням остеонів (на 21-у добу), що прискорює заповнення кісткових дефектів повноцінним регенератом в 1,3–1,4 раза за макроморфологічними і гістоморфологічними критеріями.

Практична цінність результатів та висновків роботи і рекомендацій до їх використання. Практичне значення дисертації полягає в тому, що результати наукових досліджень підтверджені актами та картками зворотного зв'язку щодо впровадження матеріалів дисертаційної роботи у навчальний процес, наукові дослідження та у ветеринарну практику клінік дрібних домашніх тварин України.

Слід відмітити, що дисертанткою у співавторстві розроблені та затверджені до практичного використання методичні рекомендації «Застосування PRP-технологій у ветеринарній медицині».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертаційна робота Шевченко С. М. базується на фактичному матеріалі, який отримано в результаті методично правильно проведених досліджень, а отримані дані оброблено статистично та підтверджена їх вірогідність. Для виконання роботи використані сучасні та класичні методи досліджень, які дозволили дисертанту виконати поставлені завдання, зробити висновки. Зміст дисертації відповідає її темі і повністю розкриває мету і завдання роботи.

Отримані результати досліджень є достовірними, що підтверджується цифровими даними, їх статистичною обробкою, аналізом та обговоренням.

Отже, наукові положення дисертаційної роботи базуються на достатньому експериментальному матеріалі, сучасних методах досліджень, ілюстровані таблицями та рисунками. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх аналіз та обґрунтування висновків і пропозицій. Мета і завдання досліджень повністю розкриті, а матеріали дисертаційної роботи в повному обсязі висвітлені у 15 друкованих працях. Висновки і пропозиції виробництву відповідають меті та змісту досліджень.

Повнота викладу наукових результатів дисертації в публікаціях.

Основні положення дисертації представлені у 15 наукових працях, 6 з яких опубліковані у наукових фахових виданнях України, 1 у виданні, включеному в міжнародну наукометричну базу даних Scopus, 7 тез доповідей, 1 методичні рекомендації. В опублікованих наукових роботах достатньо повно викладені результати експериментальних досліджень і основні положення дисертаційної роботи.

Слід підкреслити, що аналіз публікацій дисертанта, його виступів на багатьох наукових конференціях дає право констатувати, що наукова громадськість добре обізнана з представленими в дисертації дослідженнями.

Оцінка матеріалів дисертації. Дисертація Шевченко С.М. побудована відповідно до існуючих вимог і складається зі вступу, семи розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертаційна робота викладена на 310 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 16 таблицями та 99 рисунками. Список використаних джерел містить 337 найменувань, зокрема 289 – латиницею. Переважна більшість опрацьованої літератури видана за останнє десятиріччя.

Для пояснення впливу плазми, збагаченої тромбоцитами, і фібринового гелю, збагаченого тромбоцитами, автор використав ряд надсучасних

клінічних, рентгенологічних, макроморфологічних, гістологічних, гематологічних, гемостазологічних, біохімічних, статистичних методів наукового аналізу. Це дало можливість вперше в Україні встановити вплив імплантації у міжуламкові простори різних форм збагаченого тромбоцитами аутофібрину та його композиту з кальцій-фосфатною керамікою за остеозаміщення на репаративний остеогенез, що є новим у вирішенні проблеми оптимізації консолідації різних типів переломів довгих трубчастих кісток у тварин.

Також дисертанту вдалось науково довести, що різні величини відносної відцентрової сили центрифугування крові також суттєво впливають на розподіл клітинних елементів у згустках фібрину.

У «Вступі» дисертант фахово грамотно обґрунтовує актуальність теми, чітко формулює загальну мету і визначає конкретні завдання дослідження, акцентує увагу на науковій новизні, науково-теоретичному і практичному значенні отриманих результатів. Ця частина роботи свідчить, що її автор ґрунтовно знає літературу з предмету досліджень, сповна володіє отриманим фактичним матеріалом і грамотно його інтерпретує з точки зору сучасних наукових позицій.

В «Огляді літератури» автор показав свої ґрунтовні знання наукової літератури з предмету дисертації і здатність творчо аналізувати її. Отже, автор обґрунтував доцільність проведення досліджень.

У розділі «Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи» подані відомості про методика наукових досліджень, загальну схему проведення експериментальних досліджень та дослідних тварин. Поєднання методів наукового аналізу дозволило дисертанту отримати результати, які можна було відтворювати, зіставляти і узагальнювати у висновках, достовірність яких підтверджена грамотною статистичною обробкою фактичного матеріалу.

Загалом методика проведення досліджень сумнівів або зауважень не викликає. Дисертант досконало володіє багатьма методами наукового аналізу, за допомогою яких отримав результати, що відповідають поставленій загальній меті і конкретним завданням досліджень.

У розділі «Оптимізація режимів центрифугування за одержання збагачених тромбоцитами плазми та фібрину» дисертант науково довела, що застосування PRP, різних ділянок згустків PRF або невеликої кількості I-PRF різною мірою будуть впливати на репаративні процеси, оскільки вони різняться концентрацією лейкоцитів та тромбоцитів, їх локалізацією у ділянках згустків і, відповідно, за вмістом у них лейкоцитарних чи тромбоцитарних факторів росту.

У розділі дисертації «Клініко-експериментальне обґрунтування впливу PRP і різних типів PRF та їх композиції з кальцій-фосфатною керамікою на репаративний остеогенез у кролів» дисертантка довела, що остеоімплантація фібрину, збагаченого тромбоцитами у модельні дірчасті дефекти кісткової тканини кролів за гістоморфологічними критеріями оптимізує консолідацію переломів у компактній кістковій тканині за самостійного використання PRF у 1,3 раза, за комбінованого поєднання PRF+HA/ β -TCP-700 у 1,4 раза, а в губчастій кістковій тканині у 1,3 раза.

У розділі дисертації «Клініко-експериментальне обґрунтування PRP-технологій та їх комбінацій з кальцій-фосфатною керамікою у лікуванні переломів довгих трубчастих кісток у собак» дисертантка встановила, що за остеоімплантації PRF-матеріалів та особливо їх композиції з гідроксиапатитною керамікою антитромбіновий потенціал плазми крові відновлюється вже на 14-ту, тоді як у контрольних тварин тільки на 21-шу добу репаративного остеогенезу.

Отже, розподіл і виклад фактичного матеріалу в результатах досліджень логічно послідовні, що дозволило Шевченко С.М. розкрити основні наукові положення і сформулювати висновки, винесені на захист. При цьому здобувач ґрунтовно узагальнив результати наукових досліджень.

Шевченко С.М. у розділі дисертації «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» професійно, об'єктивно і правильно оцінює результати власних досліджень та визначає їх значення у вивченні.

Цей розділ дисертаційної роботи свідчить, що її автор – досить ерудований науковець, який сповна володіє самостійно отриманим матеріалом, об'єктивно і правильно його оцінює у співставленні з даними інших авторів та інтерпретує його з сучасних наукових позицій, узагальнюючи в положеннях і висновках. Загалом робота справляє дуже хороше враження. Вона логічно побудована, всі розділи послідовно зв'язані, читається легко, з інтересом.

Висунуті наукові положення та розроблені на їх основі «Висновки» ґрунтуються на достатньому обсязі експериментального матеріалу, мають високий ступінь наукового обґрунтування і повністю відповідають поставленим завданням.

У розділі «Пропозиції виробництву» чітко окреслено сфери можливого впровадження результатів досліджень (клініки ветеринарної медицини, заклади вищої освіти, наукові установи).

Під час вивчення дисертаційної роботи не виявлено порушень академічної доброчесності дисертантом.

Дискусійні положення і зауваження до дисертації. Під час вивчення

матеріалів дисертації у мене не виникло жодних зауважень стосовно методики проведення досліджень, їх суті та наукових висновків автора, які цілком відповідають меті та завданням роботи. Проте є зауваження до оформлення дисертації, які не зменшують наукового і практичного значення досліджень.

- дисертант пише: «тромбоцити це без'ядерні сферичні клітини діаметром 2–4 мкм» (ст. 48, 50, 51). Тромбоцити – це кров'яні пластинки, які утворюються із мегакаріоцитів;

- дисертант використовує термін «опорно-руховий апарат». Згідно з анатомічною номенклатурою, правильно буде «апарат руху» (ст. 25, 38, 43);

- у тексті дисертант використовує словосполучення «в залежності від цього» (ст. 24, 28, 39, 95). Правильно писати «залежно від»;

- автор дисертаційної роботи застосовує вираз «стовбурові клітини-попередники» (ст. 46). Правильно буде «стовбурові клітини різної потенції» або «прогеніторні клітини»;

- здобувач наукового ступеня використовує вираз «із власної крові пацієнта» ст. 47, 68. Правильно буде «з власної крові тварини» або «аутологічної крові тварини»;

- здобувач наукового ступеня пише: «зумовлює випуск тромбоцитами 60–70% факторів росту» (ст. 48, 50). Правильно буде «секреція, активація факторів росту» або «вихід», а не «випуск»;

- на ст. 55 автор наукової роботи пише: «збагачену тромбоцитами плазму відбирають та переливають в іншу пробірку». Правильно буде «переносять», а не «переливають».

- на ст. 55 автор дисертаційної роботи стверджує, що плазма, збагачена тромбоцитами, – це плазма, яка має концентрацію тромбоцитів від 300 000 до понад 1 500 000 клітин/мм³. Слід зазначити, що плазма збагачена тромбоцитами має концентрацію кров'яних пластинок від 1 млн тромбоцитів/мм³;

- на ст. 58, 74, 80, 85, 87 автор використовує слово «протягом». Правильно буде «впродовж»;

- вважаю некоректним висловлювання «наявність у тромбоцитарному концентраті достатнього і оптимального рівня клітин» (ст. 63). На наш погляд правильно писати «тромбоцитів», оскільки тромбоцити – це не клітини, а кров'яні пластинки;

- автор дисертаційної роботи на ст. 172 стверджує, що найменший рівень тромбоцитозу виявився за використання I-PRF (3-я дослідна група). Правильно писати «кількість тромбоцитів», а не рівень;

- вважаю некоректним висловлювання «ксенологічний фібрин, збагачений тромбоцитами» (ст. 87, 109, 141, рис. 4.41). Правильно писати

«ксеногенний фібрин, збагачений тромбоцитами». Проте на 116 і 122 ст. здобувач вживає термін ксеногенний PRF;

- на ст. 160, автор пише: «у групі PRP регенерат заповнював кістковий дефект і був вкритий періостом» (рис. 4.7, б). Необхідно писати: «у групі тварин, яким вводили PRP»;

• розділ 5.2.1. «Гематологічні показники» (ст. 212) доцільніше назвати «морфологічні показники крові», оскільки у цьому розділі описуються клітини крові та кров'яні пластинки;

- на ст. 212 автор наукової роботи пише: «Встановлено (табл. 5.2), що виникнення кісткової травми у собак супроводжується зменшенням у периферичній крові кількості еритроцитів в 1,3 раза та збільшенням в 1,1 раза вмісту лейкоцитів, порівняно з показниками клінічно здорових тварин». Лейкоцити – це клітини крові, тому правильно писати «кількість лейкоцитів» замість «вміст»;

- у дисертації зустрічаються помилки набору, стилістичні та орфографічні помилки, некоректні вислови (ст. 41, 152, 188, 211, 231);

Питання до дисертанта:

- дисертант у розділі «Огляд літератури» (ст. 41) пише: «За травматичного ушкодження судин із гранул тромбоцитів виділяються цитокіни і фактори росту, які індукують додаткову міграцію клітин лейкоцитарною ряду в місце травми не лише з судинного русла, а й, у першу чергу, з місцевих джерел». Із яких місцевих джерел відбувається міграція клітин лейкоцитарного ряду;

- автор наукової роботи використовує наукові вирази «тромбоцитарних мас або концентратів» (ст. 47). Дайте пояснення чим відрізняється тромбоцитарна маса від концентрату;

- на ст. 48 Шевченко С.М. використовує наукові вирази «плазма, збагачена тромбоцитами, тромбоцитарні маси, тромбоцитарні концентрати» Дайте відповідь: плазма, збагачена тромбоцитами, тромбоцитарні маси, тромбоцитарні концентрати, – це одне і те ж, чи ні?

- здобувач наукового ступеня у дисертації пише: «різні форми тромбоцитарних мас» (ст. 48). Доцільно надати пояснення, які є форми тромбоцитарних мас;

- яким чином використання і-PRF чи PRF у міжуламкові простори за неосколкових та остеозаміщення композитом PRF з кальцій-фосфатною керамікою за осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак не тільки скорочує терміни їх консолідації в 1,3 та в 1,5 раза порівняно з використанням лише накісткового остеосинтезу, а і супроводжується динамічним усуненням посттравматичної анемії і лейкоцитозу;

- чому аутологічна місцева трансплантація PRF у ділянки переломів та композитного остеозаміщення характеризується вищими концентраціями в

крові оксиду азоту, по стадійними піками активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази та тартратрезистентної кислої фосфатази, які свідчать про ранній ангіо- і остеогенез на фоні оптимізованої остеорезорбції;

- за травматичного ушкодження судин із гранул тромбоцитів виділяються цитокіни і фактори росту, які індукують додаткову міграцію клітин лейкоцитарною ряду в місце травми не лише з судинного русла, а й, у першу чергу, з місцевих джерел. Із яких місцевих джерел відбувається синтез цитокінів і факторів росту;

- автор дисертаційної роботи стверджує, що в усіх дослідних групах тварин у період перших 7-и діб репаративного остеогенезу спостерігали розвиток еритроцитопенії. Чому впродовж перших 7 діб репаративного остеогенезу у тварин відбувається еритроцитопенія;

- дайте пояснення, чому змінюється вміст Са у сироватці крові тварин за використання PRF, і особливо ксеногенного?

- дисертант акцентує увагу, що за консолідації переломів довгих трубчастих кісток у собак після остеосинтезу тривалі еритроцитопенія (впродовж 42-х діб) та лейкоцитоз (впродовж 21-ї доби) усуваються за PRF-остеоімплантації чи остеозаміщення гранулами гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та PRF на 21-шу та 14-ту добу, відповідно, з менш вираженим лейкоцитозом. Прошу пояснити, яким чином трансплантація гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом із аутологічним фібриновим гелем впливає на активацію еритроцитопоезу та інактивацію лейкоцитопоезу;

- поясніть: що ви розумієте під визначенням тромбоцитарні концентрати першого і другого покоління.

Сподіваюсь, що дискусійні питання та висловлені зауваження сприятимуть подальшому науковому росту і вдосконаленню дисертанта.

Загальний висновок. Враховуючи актуальність теми, обсяг проведених досліджень та їх високий методичний рівень, наукову новизну, теоретичне та практичне значення, глибокий аналіз одержаних результатів, належне оформлення дисертації, апробацію та висвітлення результатів експериментальних досліджень у наукових працях, зміст висновків і рекомендацій, вважаю, що дисертаційна робота **Шевченко Світлани Миколаївни** на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування імплантації тромбоцитарних концентратів та їх композитів із кальцій-фосфатною керамікою за переломів кісток у собак» відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», 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 № 44 від 12 січня 2022 року, а її автор Шевченко Світлана Миколаївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент,
доктор ветеринарних наук, доцент,
завідувач кафедри хірургії
і патофізіології ім. акад. І.О. Поваженка
Національного університету біоресурсів
та природокористування України



Микола МАЛЮК

Підпис Миколи МАЛЮКА засвідчую



засвідчую
департаменту ветеринарних наук
України

«05» липня 2023 р.