

Відгук

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора

Шувалова Сергія Михайловича

на дисертаційну роботу Бамбуляка Андрія Васильовича на тему:

**«Обґрунтування ефективності хірургічного лікування дефектів кісткової
тканини щелеп із застосуванням клітинних технологій»**

представлену на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук в

спеціалізовану Вчену раду Д 76.600.01

за спеціальністю 14.01.22 – Стоматологія

1. Актуальність теми дослідження

У клініці щелепно-лицевої хірургії особливо складним завданням для лікарів є відновлення об'єму кісткової тканини, а також заміщення її великих й малих дефектів. В даний час є цілий ряд остеопластичних операцій при дефектах і деформаціях кісток лицевого скелету.

Аутоканіни, безумовно, є найкращим кістковопластичним матеріалом, проте, їхній забір у пацієнта пов'язаний із додатковою травмою.

Відомо також використання цілого ряду ало- і ксенотрансплантантів, однак їх застосування поєднано з цілою низкою ускладнень пов'язаних із проблемами біологічної сумісності остеointegraції, інфекційних ускладнень.

В теперешній час одним із перспективних напрямів дослідження з даної проблеми є розробка нових остеопластичних матеріалів на основі аутоканіни пацієнта.

Вирішенню цього важкого завдання присвячено дане дисертаційне дослідження. Тема вибрана автором є актуальним і важливим напрямком у щелепно-лицевої хірургії, як у теоретичному, так і у практичному значенні.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами.

Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної теми кафедри терапевтичної стоматології Буковинського державного медичного університету «Обґрунтування та впровадження нових методів діагностики,

лікування, профілактики та реабілітації стоматологічних хворих». №державної реєстрації 0120U102553.

3. Наукова новизна дослідження.

Уперше встановлені остеобластоподібні, імуномодельючі, проліферативні, фенотипічні властивості мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини у поєднанні зі збагаченою тромбоцитами плазмою крові і остеопластичним матеріалом та використання у хірургічному лікуванні пацієнтів з недостатнім об'ємом кісткової тканини коміркових відростків щелеп з метою їх аугментації.

Уперше при атрофії кісткової тканини коміркових відростків та коміркових дуг щелеп розроблена композиція з використанням мультипотентних стромальних клітин жирової тканини, збагаченої тромбоцитами плазми крові та остеопластичним матеріалом на основі гідроксиапатиту, що використовувався в якості матриці.

Уперше розроблена нова експериментальна модель кісткового дефекту черепа тварин та вивчено особливості репаративного остеогенезу при застосуванні нової кістковозаміщуючої композиції, що включає мультипотентні стромальні клітини жирової тканини, збагаченої тромбоцитами крові та остеопластичним матеріалом на основі гідроксиапатиту у якості скаффолду.

Отримані нові наукові дані щодо ролі мультипотентних стромальних клітин жирової тканини у процесах регенерації: запропонований тканинний еквівалент кісткової тканини, що містить ММСК–ЖТ, ЗТП та остеопластичний матеріал, не проявляє цитотоксичності у культурі тканин і забезпечує скеровану диференціацію ММСК–ЖТ у клітини остеобластичного ряду, що сприяють покращенню мінеральної щільності кісткової тканини у ділянках її відновлення, знижують рівень резорбції кісткової тканини у ділянках постановки дентальних імплантантів, пришвидшують відновлення об'єму кісткової тканини коміркових відростків

та коміркових дуг. Ділянки дефектів заповнювались новоутвореною кістковою тканиною, ідентичною до нативної кістки. За результатами гістологічних досліджень та фазово-контрастної мікроскопії, отримані трепанобіоптати мали будову губчастої кістки з остеобластичними елементами, котрі утворювали ланцюг навколо osteoїдної тканини.

Уперше науково обґрунтована кісткозамінююча композиція була використана у клініці хірургічної стоматології з отриманням позитивної клінічної ефективності при виконанні основних хірургічних втручань (синус-ліфтингу, екстракції зубів, остеосинтезу при переломах щелеп та дентальної імплантації).

4. Практичне значення отриманих результатів полягає у ефективному застосуванні запропонованої остеопластичної композиції у клініці, що підтверджується даними про оптимізацію процесів репаративного остеогенезу, підвищення мінеральної щільності і структури кісткової тканини, нормалізацією показників маркерів кісткового ремоделювання. Розроблена нова експериментальна модель кісткового дефекту черепа тварин може бути використана у багатьох дослідженнях процесів репаративного остеогенезу при вивченні інших кісткозамінюючих матеріалів.

5. Впровадження результатів дослідження

Результати дисертаційного дослідження впроваджено у педагогічний процес та науково-дослідну роботу кафедр хірургічної стоматології Буковинського, Тернопільського, Дніпровського, Вінницького, Полтавського університетів та у практичну роботу стоматологічних клінік Чернівців, Львова, Вінниці, Дніпра, Тернополя, Луцька та Рівного.

6. Особистий внесок здобувача в розробку наукових результатів

Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Автором розроблена експериментально-клінічна концепція відновлення об'єму

кісткової тканини на основі нової кістковопластичної композиції, що включає мультипотентні стовбурові клітини жирової тканини, збагачену тромбоцитами плазми крові та заміником кісткової тканини на основі гідроксиапатиту. Усі хірургічні втручання проведені автором особисто.

7. Обґрунтованість, достовірність наукових положень, висновків та заключень, сформульованих у дисертації

Дисертаційна робота Бамбуляка Андрія Васильовича має значний матеріал клінічних та лабораторних досліджень. Обрані методи контролю якості та достовірності проведених досліджень є адекватними щодо запланованої мети, завдань та мають високу інформативність.

Наукові положення, висновки та заключення були отримані й сформульовані автором на основі глибокого аналізу лабораторних і клінічних даних із застосуванням рентгенографічних, морфометричних, біохімічних досліджень.

Всі методи детально описані, а об'єктивність ефективності використання їх у клініці підтверджено лабораторними дослідженнями. Отримані дані опрацьовані з глибоким статистичним аналізом із застосуванням сучасних методик.

8. Повнота викладу основних положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 45 друкованих праць, серед яких – 18 публікацій у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України; 4 у іноземних журналах, що індексуються на платформах Scopus та Web of Science; 14 - у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій та конгресів. Видано методичні рекомендації, отримано 4 патенти України на корисну модель, 4 свідоцтва авторського права. Дані про публікації повністю наведені у кінці кожного розділу дисертації.

9. Оцінка змісту дисертації

Дисертаційна робота Бамбуляка Андрія Васильовича написана на 417 сторінках комп'ютерного тексту, з яких основного тексту – 278 сторінок. Робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів (висновків та практичних рекомендацій). Робота ілюстрована 54 таблицями та 148 рисунками. Список літератури містить 432 джерела, із них 167 – кирилицею, 265 – латиницею.

Назва дисертації сформульована чітко, лаконічно та повністю відображає об'єкт та предмет дослідження.

Мета та 8 завдань також сформульовано чітко, із урахуванням всього комплексу досліджень, які забезпечують доказовість ефективності запропонованих методів лікування.

У вступі (ст. 28-38) приведені змістовні дані обґрунтування теми дисертаційного дослідження та його актуальності.

Огляд літератури (розділ I) представлено на 43 сторінках та включає 5 підрозділів.

Підрозділ 1.1 присвячено «Гендерним та віковим особливостям метаболізму кісткової тканини». На основі даних огляду літератури обґрунтовано обраний вік тварин для експерименту та найбільш інформативні, біохімічні та фізичні показники динаміки будови кістки.

У підрозділі 1.2 розглянуто етіологію і патогенез атрофії кісткової тканини коміркових відростків та коміркових дуг щелеп. За матеріалами огляду літератури зроблено обґрунтовані висновки про головні проблеми і причини резорбції та атрофії кісткової тканини.

Підрозділ 1.3 присвячений огляду сучасних матеріалів для реконструкції кісткової тканини. Аналізуючи недоліки та переваги сучасних остеопластичних матеріалів, висвітлені головні вимоги до оптимальної кістковозамісної речовини і у якості носія остеоіндукуючих клітин було обрано замінник кісткової тканини на основі гідроксиапатиту.

Огляду можливостей клітинних технологій у кістковій пластиці присвячено підрозділ 1.4. В якому ретельно обговорені можливості забору стовбурових клітин із багатьох тканин організму. Окремо були розглянуті переваги трансплантації жирової тканини та її мультипотентних стромальних клітин.

На завершенні огляду зроблений цілком обґрунтований висновок про перспективність створення нового тканинного еквіваленту кісткової тканини на основі комбінації стромальних клітин жирової тканини, збагаченої тромбоцитами плазми крові та кальцій-фосфатних комплексів.

У розділі 2 наведені дані про матеріали і методи дослідження. Перша частина розділу присвячена експериментальним методам дослідження проведеним *in vitro*. Клітинні технології потребують сучасних, дуже складних методів контролю отримання біологічно активних клітин. Так, використані й описані методики отримання мультипотентних клітин жирової тканини та збагаченої тромбоцитами плазми крові, їх фенотипування, біосумісності зразків, остеобластоподібних властивостей, при чому морфометричні дослідження були проведені на основі принципів системного кількісного аналізу. Прижиттєві визначення показників щільності кісткової тканини здійснювали за допомогою сучасного денситометру.

Також ретельно описано клінічні методи дослідження. Обстежено 280 пацієнтів з різними рівнями атрофії кісткової тканини.

Для проведення даного дослідження сформовано 4 групи в залежності від діагнозу та виду оперативного втручання. Групи порівняння складені аналогічно з дослідженнями згідно прийнятих критерій відбору, що є методологічно правильним підходом.

У підрозділі 2.3. дано характеристики матеріалів та методика отримання тканинних еквівалентів кісткової тканини. У даному підрозділі представлений остеоіндукуючий замінник кісткової тканини на основі гідроксиапатиту, що слід вважати успішним вибором, науково обґрунтованим.

Методика отримання плазми збагаченої тромбоцитами застосовані за стандартними схемами із використанням спеціалізованої центрифуги. Також методологічно правильно проводити забір жирової тканини.

Операція синус-ліфтинг проводилась у стерильних умовах із використанням сучасних інструментів та фізіодиспенсера, що дозволяло проводити хірургічне втручання щадно, фізіологічно, стандартно і суттєво покращувало можливості порівняння результатів лікування.

Також ретельно описані операції аугментації стінок лунки, остеосинтезу, але ж необхідно уточнити як Ви розташовували остеопластичний матеріал між фрагментами кісток або підокістя, покриваючи щілину зламу щелепи ззовні?

Методика проведення комп'ютерної томографії для вимірювання щільності кісткової тканини описана у підрозділі 2.4. Обрана методика є однією з найкращих та адекватна встановленим завданням. Заслуговує позитивної оцінки такий метод об'єктивізації досліджень, як гістологічний із використанням забору біоптата кісткової тканини трепаном та наступної мікроскопії (підрозділ 2.6).

Результати та ефективність дентальної імплантації простежено у 140 пацієнтів протягом 5 років (підрозділ 2.7). Дані дослідження також проведено методично правильно.

Статистичні методи відповідають поставленим завданням та меті даного виду наукової роботи.

Розділ 3 дисертації присвячений опису біосумісності та біологічним властивостям мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини експериментальних тварин.

У підрозділі 3.1 наведені результати фенотипового аналізу ММСК-ЖТ при якому виявлений профіль експресії поверхневих маркерів, які є характерними для стромальних клітин з мультипотентними клітинами.

При виконанні даного порівняльного дослідження з'ясовано, що більша кількість клітин диференціюється в остеобласті у зразках, що містять

ЗТП+ЗКТГ при більш високій активності у них лужної фосфатази, продукції позаклітинних преципітатів солей кальцію і фосфору та експресії VGP-гену.

Результати вивчення біосумісності зразків із вмістом мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини представлені у підрозділі 3.2.

Біосумісність запропонованих тканинних еквівалентів кісткової тканини, на основі ММСК жирової тканини була підтверджена збільшенням площі компактної та сіткоподібної зон росту мігруючих фібробластів, що достовірно продемонстровано у чітких, дуже інформативних 14 мікрофотографіях культур клітин при їх з'єднанні із тканинами зубів та кісток.

У резюме до розділу 3 (ст.148) дисертант приводить цілком обґрунтовані висновки про високу ефективність запропонованої остеопластичної композиції та можливості її застосування у щелепно-лицевій хірургії та хірургічній стоматології.

У Розділі 4 наведені дані експериментального дослідження ефективності застосування тканинних еквівалентів кісткової тканини на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини.

Експеримент проведений на 144 щурах з утворенням дефекту кісток черепа. У створених досліджуваних групах тварин були виявлені остеопластичні властивості різних тканинних еквівалентів кісткової тканини. Загальний стан тварин було оцінено клінічно та на основі показників лейкограм і біохімічних сполук.

Активність остеопластичних факторів підтверджена низкою генетичних досліджень.

Дані гістологічних досліджень також свідчать про високу остеопластичну активність запропонованого остеопластичного комплексу, що впевнено продемонстровано на 12 мікрофотографіях регенеруючих кісткових тканин. Крім того, було проведено морфометричне дослідження тканин регенерату, що посилює об'єктивність заключень.

Дані дослідження проведені у динаміці термінами 1-3 місяці, що ще більш позитивно ілюструє процеси регенерації, їх послідовність.

У «Резюме» до розділу 4 автор наводить цілком обґрунтовані висновки про високу ефективність запропонованого клітинного еквіваленту кісткової тканини.

У розділі 5 дана клінічна оцінка застосування остеопластичних матеріалів для відновлення об'єму альвеолярної кістки щелеп при хірургічних втручаннях.

Хірургічні втручання проведено 280 хворим. У залежності від виду операції були сформовані 4 групи пацієнтів. У першій групі пацієнтів (67 хворих) проведено 67 операцій «синус-ліфтинг». Порівняння клінічних ознак проводилась у хворих із застосуванням відомого методу використання замітника кісткової тканини на основі гідроксиапатиту та нової композиції, яка включала стовбурові клітин та плазму збагачену тромбоцитами. Виявлено, що клінічні показники у хворих основної досліджуваної групи значно кращі на усіх етапах спостережень.

Аналогічні результати отримані і у наступних трьох групах, у яких проводились операції остеосинтезу щелеп, аугментації лунки та видалення ретенуваних зубів, що вказано у резюме до розділу.

Результати променевих, біохімічних та гістологічних досліджень при відновленні кісткової тканини коміркових відростків та коміркових дуг щелеп порівнювальними остеопластичними матеріалами висвітлено у шостому розділі.

Наведені дані комп'ютерної томографії. Рентгенографічні результати простежено у динаміці терміном до року. Позитивний ефект застосування запропонованої остеопластичної композиції чітко прослідковується на всіх термінах спостереження.

Дані клінічних та біохімічних показників крові хворих (підрозділ 6.2) свідчать про ефективність обраної методики.

У підрозділі 6.3. наведені «Клінічні приклади лікування хворих із використанням остеопластичних матеріалів».

У клінічному прикладі №1 була наявна значна атрофія коміркового відростка верхньої щелепи. При проведенні остеопластичної операції за авторською методикою сформовано умови для успішної імплантації зубів та ортопедичного заміщення дефектів. Позитивний результат підтверджено якісними рентгенограмами та гістологічним дослідженням.

Також, наведені результати хірургічно-ортопедичного лікування ще двох складних клінічних випадків, на основі чого можна зробити обґрунтовані висновки про доцільність застосування запропонованого методу лікування у клініці.

Порівняльна клінічно-функціональна оцінка етапу дентальної імплантації після відновлення об'єму альвеолярної кістки остеотропними матеріалами наведена у розділі 7.

Проаналізовано цілу низку показників гігієнічного стану порожнини рота пацієнтів при проведенні дентальної імплантації у динаміці протягом шести місяців. Крім того, за результатами частотно-резонансного аналізу, досліджено стабільність дентальних імплантів у хворих у різні терміни спостереження.

У кінці розділу наведений складний клінічний приклад пов'язаний з одонтогенною патологією, значним руйнуванням кістки та вираженим дефектом. У результаті успішно проведеного лікування за запропонованою методикою була утворена можливість встановлення імплантів та усунення дефектів кістки, що висвітлено у резюме.

Опис матеріалу дисертації завершується змістовним «Аналізом та узагальненням отриманих результатів». Проаналізувавши отримані у всіх групах пацієнтів дані та порівнявши їх з аналогічними показниками у сучасній літературі, автор сформулював цілком обґрунтовані висновки.

Висновки (всього 8) та практичні рекомендації, об'ємні й повні, з урахуванням статистичної обробки висвітлених результатів дисертаційної роботи та відповідають восьми завданням дослідження.

Таким чином, дисертаційна робота заслуговує позитивної оцінки. Дане глибоке дослідження дозволяє по новому розглядати проблему створення та використання нових остеопластичних матеріалів.

Під час рецензування роботи, крім зауважень, у тексті відгуку до дисертанта виникли наступні запитання:

1. Чому саме жирова тканина є джерелом мультипотентних та навіть остеогених клітин?

2. Чому для ліпоаспірації була обрана саме пупкова ділянка живота?

3. При видаленні ретензованого третього моляра Ви заповнювали лунку остеотропним матеріалом та колагеновою мембраною (підрозділ 2.3.6). Яке ваше ставлення про необхідність накладання швів при даній операції?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності в дисертаційній роботі.

У рецензованій дисертаційній роботі не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом представленого наукового дослідження. Підтвердженням цього є експертний висновок Комісії з виявлення та запобігання академічному плагіату Буковинського державного медичного університету (унікальність (оригінальність) становить 96,24%). Текст є оригінальним: всі цитати коректно позначені та відображені в списку літератури.

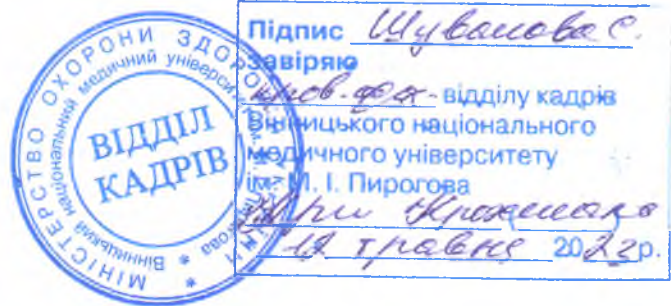
11. Висновок

Дисертація Бамбуляка Андрія Васильовича «Обґрунтування ефективності хірургічного лікування дефектів кісткової тканини щелеп із застосуванням клітинних технологій» представлена на здобуття наукового

ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія є завершеною самостійною роботою, у якій клініко-експериментально обґрунтовано новий напрямок у вивченні та лікуванні хворих з дефектами кісткових тканин щелеп із застосуванням остеопластичних матеріалів на основі мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин жирової тканини, морфологічно та біохімічно обґрунтована можливість біотрансформації мультипотентних клітин в остеобластичні та здійснено практичне використання цього явища у клініці, що фундаментально вирішує важливу наукову та практичну проблему.

Аналіз матеріалу дисертації, опублікованих робіт дозволяє зробити висновок, що рецензована робота виконана на сучасному рівні та відповідає вимогам пп. 7, 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №1197 від 17 листопада 2021 року, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – Стоматологія.

**Завідувач кафедри
хірургічної стоматології та
щелепно-лицевої хірургії
Вінницького національного
медичного університету
імені М.І.Пирогова
доктор медичних наук, професор**



Сергій ШУВАЛОВ