

ВІДГУК

офіційного опонента – докт. мед. наук, проф. Чумакової Ю.Г. –
на дисертацію ЦИГАНОВОЇ Ірини Валеріївни на тему:
«Обґрунтування застосування остеопластичних аутологічних біоматеріалів в
комплексній терапії хворих на хронічний генералізований пародонтит»,
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія
у спеціалізовану вчену раду Д 41.563.01
в Державній установі «Інститут стоматології НАМН України»

Актуальність теми дисертації. Проблема захворювань пародонту залишається однією з найважливіших в стоматології у зв'язку з масовою поширеністю їх у населення, виникненням вогнища хронічної інфекції в організмі, прогресуючим перебігом, що призводить до передчасної втрати зубів при значному ураженні навколорізних тканин (Данилевський Н.Ф., Борисенко А.В., 2000; Белоклицкая Г.Ф., 2007; Kinane D.F., 2001; Albandar J.M., Tinoco E.M.V., 2002).

У комплекс пародонтологічного лікування входять різні види стоматологічної допомоги – терапевтичне (загальне і місцеве), хірургічне, ортодонтичне, ортопедичне, фізіотерапевтичне лікування, які мають етіотропну, симптоматичну і патогенетичну спрямованість. Проте результати лікування пародонтиту істотно залежать від розуміння біологічних особливостей регенерації тканин, можливості відновлення структурної біології усього ураженого пародонтального комплексу (епітеліального прикріплення, пародонтальної зв'язки, цементу кореня зуба, втраченої альвеолярної кістки), що є однією з найбільш складних завдань у пародонтології. З метою прискорення регенерації пародонтальних тканин протягом останніх десятиліть застосовують широкий діапазон терапевтичних і хірургічних методів лікування з введенням різних біосумісних матеріалів.

На теперішній час отримані позитивні результати впровадження в медичну практику досягнень молекулярної й клітинної біології з трансплантації різних регуляторних сполук, у тому числі стовбурових клітин, з метою заміщення в організмі ушкоджених і зношених тканин.

Прогрес у дослідженні перспективи застосування стовбурових клітин і тканинної інженерії для тканинної регенерації спостерігається і в стоматологічній практиці (Скрипников П.Н. с соавт., 2006; Яриніч-Бучинська Н.П., 2008; Грудянов А.И. с соавт., 2009; Alhadlaq A., Mao J.J., 2003; Camelo M. et al., 2003). Тому актуальним є подальший пошук нових ефективних методів спрямованої регенерації тканин при лікуванні захворювань пародонту.

Представлена дисертаційна робота Циганової І.В. присвячена розробці, експериментальному обґрунтуванню та клінічному опрацюванню методу спрямованої регенерації кісткової тканини при хірургічному лікуванні пародонтиту з застосуванням аутологічних стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини з метою підвищення ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит II-III ступеню.

Таким чином, тема дисертаційної роботи є актуальною, відповідає потребам сучасної стоматології, а отримані результати безумовно мають важливе значення для медичної науки і практики.

Дисертаційна робота Циганової І.В. виконана відповідно до плану комплексної науково-дослідної роботи кафедри стоматології та терапевтичної стоматології ХМАПО «Клінічний перебіг основних стоматологічних захворювань з урахуванням соматичної патології в умовах екологічно-небезпечних факторів довкілля. Розробка схем профілактики, лікування та реабілітації хворих з використанням вітчизняних матеріалів» (№ ДР 0110U002440). Здобувач була безпосереднім виконавцем окремого фрагмента зазначеної НДР.

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

Дисертаційна робота І.В. Циганової виконана на сучасному науковому рівні та великому експериментальному, клінічному та лабораторному матеріалі.

Отримані результати дисертаційної роботи, проведених наукових досліджень, висновки та рекомендації базуються на достатній кількості експериментальних досліджень (3 експерименти на тваринах з використанням 12 білих щурів лінії Wistar і 45 кролів породи Шиншила) та клінічних спостережень (20 хворих на генералізований пародонтит II-III ступеня, з яких у 10 хворих-добровольців на хірургічному етапі лікування пародонтиту використовували аутологічні стовбурові клітини).

Для вирішення поставлених у дисертації задач автором проведені експериментальні на тваринах, клінічні, лабораторні (гістологічні, морфометричні, мікроскопічні, виділення та культивування стовбурових клітин) та статистичні дослідження. Використані методи сучасні, адекватні поставленим завданням дисертаційної роботи та дозволяють отримати вірогідні результати, які оброблені сучасними математичними методами за допомогою персонального комп'ютера.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації, цілком обґрунтовані, об'єктивні, впливають зі змісту роботи. Достовірність наукових положень та висновків підтверджується верифікацією результатів, отриманих в умовах перевірок на різних об'єктах дослідження, а також шляхом порівняння з різними групами хворих та експериментальних тварин, які формувалися відповідно до вимог для забезпечення репрезентативності й об'єктивності результатів.

Наукова новизна дисертаційного дослідження полягає насамперед у тому, що автором вперше в Україні на підставі комплексних експериментально-клінічних досліджень обґрунтовано та опрацьовано методику застосування аутологічних стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини при хірургічному лікуванні пародонтиту, що дозволило істотно підвищити ефективність лікування хворих на генералізований пародонтит.

Автором за результатами експериментальних досліджень вивчені властивості восьми відомих остеопластичних матеріалів різного походження в якості матриці-носія (скаффолду) для стовбурових клітин з кісткового мозку щурів. Доведено, що найкращими транспортними властивостями володіє композиційний синтетичний матеріал Коллапан Л.

На підставі проведеного в експерименті порівняльного аналізу процесу загоєння змодельованого кісткового дефекту щелепи при застосуванні різних остеопластичних матеріалів з додаванням аутологічних стовбурових клітин з кісткового мозку кролика встановлено, що найкращі результати отримані при застосуванні Коллапану Л із стовбуровими клітинами, що підтверджено повноцінною регенерацією кісткової тканини на 60-у добу експерименту.

Автором за результатами власних досліджень вперше визначено дозозалежний репаративний ефект стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини. Доведено, що оптимальною для повноцінної регенерації

кісткової тканини виявилася доза 500 тисяч стовбурових клітин кісткового мозку кролика на дефект розміром $0,027 \text{ см}^3$.

Показано, що введення 500 тис. стовбурових клітин кісткового мозку на носії – Коллапані через 90 днів призвело до повного відновлення гістологічної структури змодельованого дефекту нижньої щелепи кролика.

Також в цьому експерименті вперше встановлено, що стовбурові клітини кісткового мозку мають більш виражений остеогенний потенціал у порівнянні із стовбуровими клітинами жирової тканини.

Практичне значення роботи. Отримані дисертантом результати є вагомим вкладом у вирішення завдання підвищення ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит шляхом застосування аутологічних стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини в композиції з остеопластичними матеріалами для спрямованої тканинної регенерації на етапі хірургічного лікування пародонтиту.

Автором вперше в Україні експериментально та клінічно обґрунтований дозозалежний ефект застосування стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини.

Запропонований метод лікування генералізованого пародонтиту впроваджений у 3-х стоматологічних закладах України. Основні наукові положення дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі кафедри стоматології та терапевтичної стоматології ХМАПО та кафедри післядипломної освіти лікарів-стоматологів ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

За матеріалами роботи видані методичні рекомендації «Спосіб направленої регенерації кісткової тканини у стоматології».

Матеріали дисертації достатньо повно викладені у 8 наукових працях, з яких 5 статей (4 – у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у фаховому виданні Білорусі), 3 тези доповіді у матеріалах науково-практичних конференцій. Рівень публікацій високий. Обсяг достатній і відповідає вимогам МОН України.

Матеріали дисертації доповідались та обговорювались на 6 науково-практичних конференціях, з'їздах.

Загальна характеристика роботи, оцінка її змісту і результатів.

Дисертаційна робота Циганової І.В. на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук викладена на 174 сторінках принтерного тексту, ілюстрована 92 рисунками, містить 4 таблиці. Побудована традиційно: складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), опису матеріалів і методів дослідження (розділ 2), 3-х розділів з результатами власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел, який включає 242 першоджерела (117 – кириллицею, 125 – латиницею).

Зміст автореферату дисертації є ідентичним змісту виконаної дисертаційної роботи.

У *вступі* (6 стор.) автор на основі вивчення джерел літератури конкретно та достатньо повно обґрунтовує доцільність і актуальність даної роботи, формулює мету і конкретні завдання дослідження, об'єкт і предмет дослідження, наводить методи досліджень, що використані в роботі, висвітлює наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача при виконанні роботи, приводить дані про апробацію матеріалів дисертації на науково-практичних конференціях і кількість публікацій за темою дисертації в наукових фахових виданнях.

Зауваження: 1) На мій погляд, в анотації наведено дуже мало посилань на відомі наукові праці по темі дисертації, особливо стосовно питань регенеративної пародонтології. Це не зовсім зрозуміло, бо в обзорі літератури представлено багато відповідних першоджерел.

2) В дисертації не потрібно представляти пункт «Об'єм і структура дисертації».

Розділ 1 (Огляд літератури) викладений на 27 сторінках тексту. Він складається із 4 підрозділів і не перевищує 20% основного тексту дисертації за вимогами МОН. Автор дає досить повну характеристику стану проблеми на сьогоднішній день та перспектив її розвитку.

У першому підрозділі 1.1 дисертант послідовно приводить дані літератури про історію розвитку клітинної та тканинної терапії в загальній медицині та в стоматології; представляє класифікацію та ретельну характеристику різних видів стовбурових клітин, їх переваги, здатність до

диференціювання; наводить приклади застосування стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини в різних галузях медицини.

Другий підрозділ огляду літератури 1.2 присвячений аналізу джерел стосовно розвитку тканинної біоінженерії та клітинної терапії в стоматології. Приведені переконливі докази про ефективність запропонованих різними авторами методик переважно в експерименті на лабораторних тваринах та поодинокі праці про клінічні дослідження.

У підрозділі 1.3 наводиться інформація про метод спрямованої регенерації кісткової тканини, про різні остеопластичні матеріали та вимоги до них.

Підрозділ 1.4 присвячений інформації про метод спрямованої тканинної регенерації, що полягає у використанні спеціальних мембран різного походження, резорбуємих і нерезорбуємих, які забезпечують оптимальні умови для регенерації усіх тканин пародонтального комплексу.

Таким чином, представлений огляд літератури є досить різноплановим, інформативним і логічно підтримує мету дисертаційного дослідження.

Зауваження: 1) Бажано було б сформулювати загальну назву огляду літератури.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» викладений на 16 сторінках і містить 4 підрозділи з обґрунтуванням мети дослідження, переліком та ретельним описом експериментальних, клінічних, лабораторних і статистичних методів досліджень. Загалом розділ викладений ґрунтовно, інформативно. Методологічний підхід до досліджень правильний. Застосовані методи сучасні, об'єктивні і дають змогу отримати достовірні результати.

Як позитивний момент хочу відзначити детальний грамотний опис методики виділення стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини тварин, їх культивування та диференціювання (імунофенотипування).

Зауваження: 1) У підрозділі 2.2 (стор. 40-41), при описанні першого експерименту на щурах, не зовсім зрозуміло, яким чином проводилась оцінка цитотоксичності для стовбурових клітин різних остеопластичних матеріалів: у якому середовищі, яким методом?

У *третьому розділі* дисертації з назвою «Оптимальний носій стовбурових клітин. Загоєння дефектів при застосуванні скафолдів з введенням

стовбурових клітин кісткового мозку кролика *in vivo*» (12 сторінок, 2 підрозділи) представлені результати двох експериментів на тваринах.

У першому експерименті автором досліджена біосумісність стовбурових клітин кісткового мозку щурів з різними остеопластичними матеріалами природного і штучного походження. Стовбурові клітини кісткового мозку наносили на остеопластичні матеріали хімічної та біологічної природи: Біо-Ген (Італія), Біоколаген (Швейцарія), Біо-Осс (Швейцарія), Періоглас (США), Osteoapatit (США), Кергап (Україна), Коллапан Л (Росія), Стимул-Осс (Росія).

В результаті дослідження встановлена цитотоксичність для стовбурових клітин двох носіїв – Періогласа і Стимул-Осса. Коллапан, Біо-Ген, Біоколаген, Біо-Осс, Osteoapatit, Кергап не чинили негативного впливу на стовбурові клітини, що вказує на можливість їх використання в якості матриці-носія в регенеративній терапії. Найкращий результат встановлено для матеріала Коллапан Л.

У другому експерименті *in vivo* автором досліджено процес загоєння кісткового дефекту нижньої щелепи кролика при застосуванні різних остеопластичних матеріалів-скаффолдів з додаванням стовбурових клітин кролика.

За результатами гістологічних і морфометричних досліджень встановлено, що аутологічні стовбурові клітини, введені в область кісткового дефекту з Коллапаном, забезпечують повноцінну регенерацію кісткової тканини. Вже на 30 добу була сформована мережа кісткових трабекул з високою щільністю остеоцитів на їх поверхні та з вираженим остеобластичним диференціюванням клітин. На 60 добу експерименту в тканинах регенерату превалує кісткова тканина.

Розділ інформативно ілюстрований 31 рисунком (фото операції, мікропрепаратів кісткової тканини щелепи, діаграми).

Зауваження: 1) Матеріал підрозділу 3.1 представлений дуже стисло, немає статистичних даних і доказів переваги того чи іншого матеріалу.

Четвертий розділ з назвою «Морфогенез кісткової тканини щелепи кролика в залежності від дози аутологічних стовбурових клітин і способу їх отримання» викладений на 41 сторінці тексту та містить 10 підрозділів.

Метою третього експерименту на тваринах стало дослідження впливу аутологічних клітин кролика, отриманих з кісткового мозку та жирової

тканини, в кількості 100 тисяч, 500 тисяч, 1 мільйон, отриманих з кісткового мозку та жирової тканини, на загоєння дірчастих дефектів альвеолярного відростку, об'ємом $0,027 \text{ см}^3$. Було використано 32 кролика-самця породи Шиншила віком 1 рік. Усі тварини були розподілені на 8 серійних груп, по 4 кролика в кожній.

За результатами морфологічних досліджень встановлено, що у всіх дослідних групах при введенні стовбурових клітин як з жирової тканини, так і з кісткового мозку, на носії Коллапан, відмічається стимуляція остеогенезу.

При цьому, згідно з морфометричними даними, на 42 добу відновлення кісткової тканини у групах з введенням стовбурових клітин кісткового мозку було на 14% скоріше у порівнянні з стовбуровими клітинами з жирової тканини. На 90 добу утворення остеогенних структур в групах тварин, яким вводили стовбурові клітини кісткового мозку, було в 3 рази більше, ніж у групах з введенням стовбурових клітин з жирової тканини.

При порівнянні структури тканин регенерату залежно від кількості клітин встановлено, що найбільш оптимальною та інтенсивною була стимуляція остеогенезу при введенні 500 тис. стовбурових клітин для дефекту об'ємом $0,027 \text{ см}^3$. Визначено, що після введення в дефект 500 тисяч аутологічних стовбурових клітин з Коллапаном за період з 42 до 90 діб відбувалась істотна якісна зміна темпу остеогенезу в структурі регенерату, що призвело до значного збільшення новоутворених кісткових структур (з 44% до 85%). Введення 500 тисяч аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку з Коллапаном за 90 діб призвело до повного відновлення гістологічної структури нижньої щелепи кролика.

Розділ інформативно ілюстрований показовими діаграмами та фотографіями мікропрепаратів кісткової тканини. Принципових зауважень до розділу не виникло.

П'ятий розділ «Результати хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит II-III ступеня важкості» викладений на 24 сторінках, містить 3 таблиці та 14 рисунків (прикладі ортопантограм щелеп хворих, пародонтальні карти «Флорида Проуб»). Це єдиний клінічний розділ роботи, в якому представлені результати лікування генералізованого пародонтиту за запропонованою методикою.

Групу клінічних спостережень склали 20 хворих на генералізований пародонтит II-III ступеня, яким проведено комплексне лікування, що полягало в професійній гігієні порожнини рота, усуненні травматичної оклюзії, фармакотерапії, що включала призначення антимікробних, остеотропних, десенсибілізуючих препаратів, вітамінних комплексів.

В основній групі з 10 хворих-добровольців на хірургічному етапі лікування пародонтиту при проведенні клаптевих операцій використовували стовбурові клітини з урахуванням обсягу дефекту (з розрахунку 2 млн. стовбурових клітин). Забір, культивування та, в разі необхідності, кріоконсервування стовбурових клітин кісткового мозку здійснювали в Центрі опіків, реконструктивної і пластичної хірургії, який розташований у Харківській міській клінічній лікарні №4 швидкої невідкладної допомоги ім. О.В. Мещанінова.

У 10 пацієнтів групи контролю проводили аналогічні клаптеві операції без застосування стовбурових клітин.

Треба відмітити, що при клінічному обстеженні хворих на генералізований пародонтит автор використовувала сучасну систему пародонтального зондування «Florida Probe», яка дозволяє отримати найбільш об'єктивні показники пародонтального статусу пацієнтів. Крім того, ефективність лікування оцінювали за результатами рентгенологічного обстеження через 6 і 12 місяців після операції.

Проведені контрольні клінічні та рентгенологічні обстеження хворих у віддалені строки показали, що застосування аутологічних стовбурових клітин на хірургічному етапі лікування пародонтиту призвело до найкращих результатів у порівнянні з контрольною групою хворих. Це підтверджено більш виразною позитивною динамікою зміни усіх пародонтальних індексів, покращенням рівня гігієни порожнини рота, усуненням пародонтальних кишень, покращенням структури кісткової тканини альвеолярного відростка, а головне, тривалою стабілізацією дистрофічно-запального процесу в тканинах пародонта.

Розділ інформативно насичений, ілюстрований таблицями та рисунками. Містить показові виписки з історії хвороби 2-х пацієнтів (основної і контрольної групи), де дуже ретельно описані усі дані об'єктивного обстеження, всі етапи лікування і віддалені результати.

Зауваження: 1) Було б більш зручним аналізувати дані клінічного обстеження пацієнтів основної і контрольної груп до та після лікування в одній таблиці, а так вони наведені в трьох таблицях (табл. 5.1, 5.2, 5.3). Це ускладнює статистичний аналіз цифрових даних.

Розділ «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» викладений на 9 сторінках та присвячений узагальненню і обговоренню отриманих автором результатів дослідження. В ньому приведені обґрунтовані обговорення результатів проведених експериментальних, лабораторних і клінічних досліджень. В цілому визначені значення отриманих результатів для теорії та практики сучасної стоматології.

Зауваження: 1) На жаль, у цьому розділі не наведено жодного посилання на аналогічні наукові праці інших дослідників з метою порівняння отриманих Вами результатів з результатами попередніх досліджень.

Висновки, їх 5, написані стисло, але конкретно, обґрунтовано, ілюстровані кількісними показниками і, в цілому, також є підсумком всього виконаного дослідження.

Практичні рекомендації (3 пункти) є конкретними і зрозумілими для практичних лікарів і пропонуються автором для впровадження в клінічну практику.

Список використаних джерел викладений у порядку посилань за текстом, є достатньо повним і характеризує основний зміст дисертації.

Автореферат дисертації та опубліковані праці повністю відображають основні положення та висновки дисертаційної роботи.

Загальні зауваження до роботи:

1. На мій погляд, доцільно було б оформити Патент на новий спосіб лікування генералізованого пародонтиту з метою доведення його пріоритетності.

2. Мета дослідження сформульована як «підвищення ефективності хірургічного етапу комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит». При цьому хірургічний етап є основним в лікуванні хворих на ГП II-III ступеня. Тому я вважаю, що не потрібно було акцентувати увагу лише на

підвищенні ефективності хірургічного етапу, а все ж таки – на підвищенні ефективності усього лікування.

Слід зазначити, що наведені у відгуку зауваження не носять принципового значення і суттєво не впливають на загальне позитивне враження від наукової праці, як за змістом, так і за оформленням.

В плані дискусії пропоную дисертанту надати пояснення по деяким питанням:

1. Які препарати Ви найчастіше призначали на консервативному етапі лікування пародонтиту (антимікробні, остеотропні, десенсибілізуючі, вітамінні комплекси)? Призначали чи ні антибіотики, на якому етапі лікування?

2. Визначте, будь ласка, показання до застосування аутологічних стовбурових клітин у клінічній пародонтології. У яких випадках ця методика може бути найбільш доцільною?

3. Які, на Ваш погляд, перспективи розвитку клітинної терапії і тканинної біоінженерії в стоматології в Україні?

ВИСНОВОК

У цілому дисертаційна робота ЦИГАНОВОЇ Ірини Валеріївни на тему: «Обґрунтування застосування остеопластичних аутологічних біоматеріалів в комплексній терапії хворих на хронічний генералізований пародонтит» є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані теоретичні і практичні результати, що в сукупності вирішують конкретне наукове завдання, що полягає у підвищенні ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит методом направленої регенерації кісткової тканини з використанням аутологічних стовбурових клітин з кісткового мозку та жирової тканини.

Отримані результати і зроблені висновки підтверджені достатнім обсягом проведених експериментальних, лабораторних і клінічних досліджень на сучасному методичному рівні і досить повно опубліковані. У результаті проведеного дослідження сформульовані нові наукові положення і практичні рекомендації для сучасної стоматології.

Дисертаційна робота за актуальністю теми, обґрунтованістю та достовірністю отриманих результатів, їх науковою новизною і практичною значимістю, за оформленням роботи повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 423 від 07.03.2007 р. (із змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р.), а її автор ЦИГАНОВА Ірина Валеріївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 - стоматологія.

Офіційний опонент:

Професор кафедри загальної стоматології
Одеського медичного інституту
Міжнародного гуманітарного університету
доктор медичних наук, професор



Ю.Г. ЧУМАКОВА

Лідисе поєвідеуо:

*Реаише Міжнародного
гуманітарного університету,
професор*



А.Ф. Крутишовський