

## РЕЦЕНЗІЯ

Доктора медичних наук, професора Ткаченко Павла Івановича на дисертаційну роботу Торопова Олександра Анатолійовича «Застосування кріоконсервованої плаценти на етапах профілактики утворення патологічних рубців шкіри в ділянках обличчя та шиї» представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22-охорона здоров'я за спеціальністю 221–стоматологія.

### Актуальність теми

Внаслідок проведення ургентних і планових оперативних втручань та травматичних пошкоджень можуть виникати різні види рубців – від нормотрофічного до келоїдного. Особливо гостро проблема постає коли мова йде про їх розташування на обличчі та шиї. Безумовно, сама рубцева тканина являється наслідком репаративної регенерації і утворюється вона у тих випадках, коли організм не може відшкодувати втрату за рахунок відновлення структурних елементів тканин, які були ушкоджені. Обов'язковим складовим компонентом тканинної реакції являється процес репаративної регенерації, коли прослідковується єдність процесів альтерації, регенерації та фіброзу. Контроль за перебігом здійснюється за допомогою генетичної детермінанти і, відповідно, супроводжується стереотипною реакцією з боку організму у відповідь на травмуючий чинник.

Беззаперечно, сам феномен формування рубця в значній мірі залежить від характеру загоювання рани. Якщо рана загоюється первинним натягом, утворюється мінімальна кількість молодого сполучної тканини, яка довгий час буде трансформуватися в рубець. Результатом загоєння вторинним натягом є рубець, структура і фізичні властивості якого залежать від розмірів та форми нанесеної рани, тривалості загоювання, застосування фармакологічних препаратів як на загальному так і місцевому рівні.

Але навіть на даний час не запропоновано аргументованих і виважених рекомендацій стосовно можливостей профілактичних заходів впливу на рубці на окремих етапах їх формування, не визначені чіткі показання до медикаментозного супроводу пацієнтів з їх різними видами. Це і обумовлює постійний активний пошук та застосування для лікування ран нових сучасних фармакологічних препаратів, біологічна активність яких спрямована на запобігання грубого рубцювання та келоїдизацію рубців на різних етапах їх диференціювання, що і представляє актуальність даної наукової праці.

Дисертаційна робота, являється фрагментами науково-дослідної роботи кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії ПДМУ за темою «Діагностика, хірургічне та медикаментозне лікування пацієнтів з травмами, дефектами та деформаціями тканин, запальними процесами щелепно-лицевої локалізації» (№ ДР 0119U102862).

### **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.**

Обґрунтованість отриманих автором результатів, наукових положень, висновків і практичних рекомендацій обумовлена правильним структуруванням змісту роботи та дизайну, достатньою кількістю клінічних спостережень із залученням клініко – лабораторних, додаткових і спеціальних методів обстеження. Перелік досліджень використаний для проведення наукової розробки відповідає поставленій меті та визначеним завданням. Вони інформативні і деякі із них прості у виконанні.

Основні положення дисертаційної роботи сформульовані дисертантом особисто, що свідчить про академічну добросовісність автора, адже він при виконанні роботи керувався інструкціями що стосуються питань біоетики. Достовірність отриманих результатів підтверджена статистичною обробкою цифрових даних із залученням сучасних комп'ютерних технологій і програм, що дозволило сформулювати обґрунтовані наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

## Наукова новизна

Вперше дисертантом створено доказову базу стосовно переваги і ефективності профілактичних заходів, спрямованих на запобігання патологічних рубців в ділянці голови та шиї після планових оперативних втручань на підставі всебічного аналізу результатів клінічних, молекулярно-біологічних і біохімічних складових.

Отримано нові наукові дані стосовного того, що у пацієнтів з ранковим хронотипом достатньо проводити монотерапію шляхом інтраопераційного введення кріоекстракту плаценти у рану, а при вечірньому хронотипі показане інтраопераційне введення її у поєднанні з електрофорезом. Коли час операції співпадає з циркадним ритмом позитивний результат за таких умов прослідковується у 64% пацієнтів з ранковим і у 57% з вечірнім хронотипом.

Доповнено наукові дані що до участі продуктів вільно радикального перекисного окислення ліпідів, факторів антиоксидантного захисту та деяких біохімічних складових гомогенату рубців в процесі формування якості післяопераційних рубців. Отримані результати вказують на те, що застосування запропонованої авторської методики більш позитивно відображається на відновленні рівня цих показників.

Отримано нові наукові дані які характеризують залежність рівня експресії мРНК генів периферичного молекулярного годинника як позитивної, так і негативної ланок регуляції від хронотипу пацієнта. Встановлено переважання балансу в сторону позитивної ланки регуляції обох годинників і генів у осіб з вечірнім хронотипом та в сторону негативної при його ранковому типі. Наведено розрахунок співвідношення різних пулів гену і зосереджена увагу на їх інформативності при складанні алгоритму профілактичних заходів.

Визначена роль оціночних клінічних показників у проведенні порівняння характеру та якості процесів репаративної регенерації

пошкоджених тканин і на підставі отриманих результатів доведено переваги авторської методики спрямованої на профілактику грубого рубцювання.

### **Практична значимість**

Розроблена дисертантом методика профілактики утворення патологічних рубців дозволяє скоротити строки перебування пацієнтів на лікарняному ліжку на 1,5 доби та створює сприятливі умови для формування нормо трофічних рубців у віддалені терміни після оперативного втручання. Ця розробка може бути з успіхом використана та адаптована і при проведенні хірургічних маніпуляцій в різних анатомічних ділянках.

Для оцінки та прогнозування якості формування післяопераційних рубців у найближчі та віддалені терміни спостереження автором вдосконалено стандартизовану таблицю для клінічної оцінки рубцевозмінених тканин, яка за любых обставин може бути використана в клінічній практиці. Проведення ж наведеного переліку молекулярно-біологічних та біохімічних досліджень дозволяє оптимізувати процес формування алгоритму профілактичних заходів і отримати вичерпну інформацію про перебіг процесу репаративної регенерації.

Результати роботи широко впроваджено в практику спеціалізованих відділень щелепно-лицевої хірургії і використовується у навчальному процесі на профільних кафедрах ЗВО України.

### **Оцінка змісту дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 186 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстрована 13 рисунками, 19 таблицями, графіками. Побудована вона за загальноприйнятими стандартами і складається із «Анотації», «Введення», «Огляду літератури», розділу «Матеріали та методи дослідження», трьох розділів власних досліджень, «Аналізу та обговорення результатів дослідження», висновків, практичних рекомендацій, додатків.

Бібліографія нараховує 215 джерел наукової інформації, із них 38 – кирилицею і 177 латиницею.

У „Вступі” чітко і виважено сформульовані мета та завдання дослідження, вказано на актуальність роботи, її наукову та практичну значимість, а також представлені відомості про особистий внесок здобувача, апробацію, публікації, структуру та обсяг дисертації.

**Розділ 1** „Огляд літератури” складається із 5 підрозділів, які висвітлені в певній послідовності, що дозволяє в повній мірі визначитися з механізмами, що приймають участь в репаративній регенерації в історичному аспекті. Значна увага приділена ролі окремих ланцюгів патогенезу які задіяні у формуванні різного типу рубців при впливі різних за характером пошкоджуючих чинників.

Наводяться відомості стосовно ролі встановлення фенотипу та функціональної гетерогенності типів клітин, які приймають участь в загоюванні рани з врахуванням фазності процесу. Представлено детальну інформацію про стадії рубцювання і характерологічні прояви типів рубців. Автор вказує на той факт, що значну роль в диференціюванні клітин відіграють тканинні клітинні елементи і складові периферійної крові, які впливають на швидкість розмноження клітинних елементів в ділянці пошкодження.

Підрозділи 1.2 і 1.3 висвітлюють питання інтраопераційної профілактики утворення післяопераційних патологічних рубців. Слід зауважити, що це досить складна та трудоємка робота, а в деяких випадках вона не приносить бажаних і очікуваних результатів. Наявні наукові повідомлення інколи носять противоречивий характер і не задовольняють в повній мірі запитів практичної медицини.

Автор також відмічає, що профілактичні заходи найбільш ефективні тоді, коли вони проводяться з врахуванням фазності загоєння рани і наголошує на тому, що частково вирішити питання щодо запобігання

виникнення патологічних рубців можливе за рахунок комплексного підходу у відповідності до врахування алгоритму для кожного пацієнта.

В підрозділі 1.4 дано пояснення стосовно індивідуальних особливостей організації добових ритмів, тобто хронотипу, та вказано на його можливості у забезпеченні адаптаційної спроможності організму людини до впливу ендоекзогенних несприятливих факторів. Мова йде і про біологічний годинник та висвітлюється його роль в регулюванні процесів пристосування до певної ситуації.

І безумовно, в підрозділі 1.5 наведено досвід застосування кріоекстракту плаценти на функціональну активність окремих клітин, органів і систем, а також засвідчена його клінічна ефективність при деяких соматичних захворюваннях. Вказано і на новаторські розробки професора Шепітько Володимира Івановича та співробітників кафедри, яку він очолює.

**Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження»** присвячено загальній клінічній характеристиці спостережень, представлено відомості про розподіл хворих за віком і статтю та у відповідності до показань до оперативного втручання на підставі узагальнення результатів обстеження 60 пацієнтів і вибору способу ведення кріоекстракту плаценти. Вони були розділені на дві групи порівняння і сформована контрольна, в кожній по 20 осіб. В подальшому їх розділили ще на підгрупи по 10 чоловік в залежності від хронотипу.

Клінічні дослідження проводилися з врахуванням показників бальної шкали, яка запатентована співробітниками кафедри для оцінки виду рубців, описана і методика застосування кріоекстракту плаценти на інтра-та пост операційних етапах спостереження. Визначення експресії генів циркадного годинника проводили на біоптатах шкіри, детально описана сама процедура, як і методи молекулярно-біологічних та біохімічних досліджень.

Всі вони виконані у відповідності до існуючих Протоколів і етичних норм, задекларованих Хельсінською Всесвітньою медичною асоціацією з

доповненнями, які були розроблені на 59-й Генеральній асамблеї цієї організації в 2008 році.

Для статистичної обробки отриманих результатів використовувалися параметричні і непараметричні методи із залученням сучасного програмного забезпечення.

**Розділ 3 «Рівень експресії матричної РНК генів периферичного молекулярного годинника Clock, Bmal1, Per1, Cry1 у пацієнтів із оперативними втручаннями в ділянках голови та шиї в залежності від хронотипу»** присвячено висвітленню питань стосовно впливу рівня експресії матричної РНК генів периферичного молекулярного годинника з позитивним і негативним типом регуляції, а в наукову розробку було залучено пацієнтів з чітко вираженим ранковим та вечірнім хронотипом. Встановлено, що рівень експресії гену м РНК Per1 значно менший від гену Cry1, що вказує на вірогідність активізації першої фази раневого процесу після оперативного втручання у пацієнтів з ранковим хронотипом.

При вивченні ритмічної експресії генів, які регулюють роботу циркадних годинників встановлено, що гетеродимери позитивних і негативних ланок регуляції утворюються в обох випадках з ділянками E- вох генів периферичного молекулярного годинника. На думку автора це необхідно враховувати при складанні алгоритму планування оперативного втручання у пацієнтів з ранковим хронотипом за певних обставин.

При вечірньому хронотипі пацієнта рівень експресії мРНК гену Clock був меншим, гену Bmal1 більшим, а експресія Per1/Cry1 зменшувалась, що свідчить про різноманітність механізмів впливу на першу фазу регенерації раньової поверхні. При визначенні співвідношення генів позитивних та негативних регуляторів при ранковому хронотипі звертає на себе увагу той факт, що відношення генів Clock/Per1 перевищує в 2,7 рази аналогічний показник, а Bmal1 до Per1 підвищене в 6,9 разів, від пацієнтів з вечірнім хронотипом. Це, на думку дисертанта, вказує на розмаїття механізмів всіх

фаз регенерації в рані на етапах формування рубця і потребує подальшого вивчення.

До розділу 4 «Клінічні дослідження» входить 6 підрозділів, в яких послідовно наведені зміни клінічного стану післяопераційних рубців у пацієнтів в залежності від хронотипу і характеру профілактичних заходів. У зв'язку з цим кожену групу додатково було розділено на підгрупи по 10 осіб в залежності від їх типу хронотипу. Динаміка змін клінічних показників в 1а підгрупі, де застосовано ведення в рану препарату Кріоцел на інтраопераційному етапі, в терміни від 90-ї і до 360 доби більш активно відбувалася повна ізопігментація рубця, він майже збігався з рівнем оточуючої шкіри, а в 60% випадків він був на її рівні. Крім того, в клінічному аспекті прояви легкого дискомфорту у вигляді свербіжу та больових відчуттів не відчували всі пацієнти з ранковим хронотипом, які були прооперовані саме в ранковий час.

У пацієнтів з вечірнім хронотипом динаміка змін клінічних показників була незначно гіршою ніж 1 а групі, що вказує на їх нестабільність і обумовлює залучення додаткових заходів. Врахувавши це дисертант в 2а та 2б підгрупах пацієнтів доповнив обсяг лікувальних заходів електрофорезом екстракту Кріоцел. Проаналізувавши показники, які характеризують місцеві зміни він прийшов до висновку, що утворення патологічних рубців більш ймовірно у осіб з вечірнім хронотипом, в порівнянні з ранковим. Встановлено, що найбільш інформативними в прогностичному плані стосовно формування нормотрофічного рубця, являються показники П1, П2, П7, особливо у пацієнтів з вечірнім хронотипом.

Аналіз динамічності змін клінічних показників в підгрупах 3 групи дозволив констатувати, що незалежно від хронотипу вони дуже різнилися не в кращу сторону від пацієнтів підгруп 1 та 2 груп і особливо це стосувалося осіб з вечірнім хронотипом. Крім того, це доводить наявність десинхронозу у пацієнтів з вечірнім хронотипом, що були прооперовані зранку і мали експресію мРНК генів негативної ланки регуляції. Рівні балів, які



характеризують об'єктивні та суб'єктивні параметри характеру перебігу загоювання ран, слід обов'язково враховувати на всіх етапах формування рубця, що дозволить при необхідності корегувати лікувальні заходи і впливати на диференціацію клітинних елементів.

До розділу 5 «Біохімічні дослідження» входить 3 підрозділи. В його основу було покладено вивчення біохімічних показників в гомогенатах шкіри для підтвердження ефективності запропонованої авторської методики, спрямованої на запобігання грубого рубцювання ран після планових оперативних втручань. При цьому вміст малонового діальдегіду мав найкращу позитивну динаміку до зменшення протягом всього періоду спостереження. На пріоритетність авторській методиці свідчила і спрямованість покращення активності СОД, каталази, еластази і вільного гідроксіпроліну в гомогенатах шкіри як в першій так і другій групах. В залежності від комбінації варіантів застосування кріоекстракту плаценти ці показники варіювали на різних етапах спостереження, особливо це відчутно проявлялося у пацієнтів з ранковим хронотипом, що знову підтверджує переваги інновацій.

### **Аналіз і узагальнення результатів досліджень**

Підводяться підсумки результатів клініко-лабораторного обстеження 60 пацієнтів різного віку і статі з різними видами патологічних рубців із локалізацією в м'яких тканинах обличчя та шиї. В виваженій послідовності викладено основні положення, що витікають зі змісту проведеного дослідження і це сприймається як одне ціле.

Наводяться відомості стосовно доцільності застосування тих чи інших методів обстеження, їх інформативності в діагностичному і прогностичному аспектах. Це дозволило встановити ряд особливостей і закономірностей формування патологічних рубців, що являється поштовхом для подальших наукових напрацювань, спрямованих на покращення косметичного ефекту у

віддалені терміни післяопераційного періоду за рахунок застосування кріоконсервованої плаценти.

Звернено увагу на необхідності обов'язкового врахування індивідуальних особливостей організацій добових ритмів пацієнтів, тобто мова йде про біологічний годинник і характер особистості, що відіграє суттєву роль у формуванні типу рубця.

Дані наукові розробки можуть бути з успіхом застосовані в спеціалізованих відділеннях щелепно-лицевої хірургії, косметологічних клініках в пластичній та реконструктивній хірургії. Матеріали роботи також можуть бути використані для написання розділу монографії, підручнику, при виданні навчальних посібників, методичних розробок та рекомендацій і вони повинні далі впроваджуватися в навчальний процес.

#### **Зауваження**

1. Слід сформулювати короткі резюме до кожного підрозділу і розширене по завершенню 1 розділу « Огляд літератури».
2. Ніде не наведено дані стосовно наявності у пацієнтів супутньої соматичної патології, що може опосередковано впливати на формування рубця.
3. Необхідно привести назву розділу 3 у відповідність до прописаного в самому «Змісті».
4. Слід чітко визначитися з послідовністю викладення матеріалу у «Змісті», основній частині роботи і узагальненні результатів.
5. Висновки перевантажені абсолютними величинами, а практичні рекомендації потребують корегування.
6. Необхідно усунути у змісті роботи технічні погрішності, стилістичні та орфографічні помилки.

## **Запитання**

1. Звідки Ви отримували кріоекстракт плаценти, умови його зберігання і особливості роботи з ним?
2. Чи необхідно проводити виявлення алергологічного анамнезу пацієнтів, адже він містить біологічно активні речовини, в тому числі і білкові компоненти?
3. Які найбільш віддалені терміни спостереження за пацієнтами, яких Ви спостерігали, адже завершення процесу формування рубця за класичним варіантом сягає двох років?
4. Чому саме було вибрано строки у 90 і 180 діб для проведення електрофорезу кріоекстракту плаценти?

## **Висновок**

Дисертаційна робота Торопова Олександра Анатолійовича «Застосування кріоконсервованої плаценти на етапах профілактики утворення патологічних рубців шкіри в ділянках обличчя та шиї», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22-охорона здоров'я за спеціальністю 221– стоматологія являється самостійно завершеним науковим дослідженням в якому отримані важливі науково обґрунтовані результати, які розв'язують важливу задачу хірургічної стоматології по підвищенню ефективності профілактичних заходів спрямованих на запобігання утворення патологічних рубців шкіри в щелепно-лицевій ділянці за рахунок застосування кріоекстракту плаценти.

Робота виконана на належному методичному рівні, базується на узагальненні матеріалу стосовно клінічних спостережень, даних додаткових та спеціальних методів дослідження, що дозволило автору сформулювати наукові положення, висновки і практичні рекомендації.

Основні положення дисертаційної роботи відображено в 16 наукових працях, з яких 2 публікації в виданнях які входять до наукометричних баз і 4 у фахових журналах, рекомендованих МОН. Крім того, матеріали висвітлені

у 8 тезах на науково-практичних конференціях та запроваджено 2 технологічні розробки. Результати дослідження також використовуються в навчальному процесі на профільних кафедрах ЗВО України та впроваджені в клінічну практику.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, аргументацією наукових положень, висновків, змістом практичних рекомендацій їх достовірністю і повнотою викладу в періодичних виданнях робота повністю відповідає Вимогам до оформлення дисертації . затверджених Наказом Міністерством освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40, Порядку проведення експерименту з присудження наукового ступеня доктора філософії, затвердженим Постановою Кабінету міністрів України від 06.03.2029 р. за №167, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22-охорона здоров'я за спеціальністю 221– стоматологія.

Рецензент:

Зав. кафедрою дитячої хірургічної стоматології

ПДМУ, д. мед. н., професор

Ткаченко П.І.

