ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету Григор'євої Олени Анатоліївни на дисертаційну роботу Максимової Олени Сергіївни на тему: «Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті», що представлена до захисту у спеціалізовану вчену раду для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина».

Актуальність теми дисертації. На сьогодні у світі налічується більше 425 млн. людей, хворих на цукровий діабет, а до 2035 року експерти прогнозують збільшення цієї цифри до 592 млн. Крім цього, ще у 280 млн. виявлено порушення вуглеводного обміну. Порушення вуглеводного обміну все частіше спостерігається у дітей та людей молодого віку. Цукровий діабет 1 типу одне з найпоширеніших хронічних захворювань дитячого віку, із частотою випадків 1 на 350 дітей віком до 18 років. Останнім часом захворюваність зростає, особливо серед дітей менше 5 років. Цукровий діабет 2 типу, колись рідкісне захворювання у дітей, зустрічається все частіше, паралельно зі зростанням дитячого ожиріння. Цукровий діабет 2 типу проявляється після статевого дозрівання з високою частотою між 15 і 19 роками.

Ще однією проблемою на сьогодні за показниками здоров'я ВООЗ є збільшення травматизму та його ускладнень. Рани становлять істотну частку хірургічної патології, є серйозною медичною проблемою в усьому світі. У порівнянні з минулими роками травматизм та насильство постійно збільшуються, ставлячи під загрозу економічний та соціальний розвиток. Тривало існуючі ранові та виразкові дефекти вимагають тривалого використання регенеруючих, протизапальних, антибактеріальних, знеболювальних препаратів та неодноразових хірургічних втручань.

Відновлювальне лікування ран є одним із актуальних медичних та соціальних проблем науки та практики, значення якого ще більш зростає зі

збільшенням кількості стихійних лих, виробничих та побутових травм, воєнних конфліктів, ростом загальної захворюваності, зниження економічного рівня життя. Не зважаючи на те, що сьогодні існує низка досліджень, які розкривають закономірності процесів регенерації шкіри за умов впливу різних чинників, багато особливостей про механізми регенерації шкіри саме за умов хронічної гіперглікемії залишаються невідомими. Крім того, останніми роками існує потреба у доступних та ефективних методах лікування ран. Результати кількох нещодавніх досліджень показали ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для лікування виразок у хворих із синдромом діабетичної стопи. При цьому, сьогодні існують поодинокі роботи, які на мікро- та ультраскопічному рівнях розкривають вплив збагаченої тромбоцитами плазами на процес регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

У зв’язку з вищевикладеним, існує потреба у більш детальному вивченні регенерації шкіри на мікро- та ультраструктурному рівнях за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми у віковому аспекті, що доповнить та поглибить знання про закономірності цього процесу.

У зв’язку з цим представлена до розгляду тема дисертаційної роботи Максимової Олени Сергіївни, метою якої є визначення морфологічних особливостей регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку із хронічною гіперглікемією, а також з’ясування можливості застосування збагаченої тромбоцитами плазми для корекції регенерації шкіри щурів різного віку за умов впливу хронічної гіперглікемії, має значний науковий та практичний інтерес.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами та темами

Представлена дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень Сумського державного університету МОН України і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри морфології Сумського державного університету МОН України «Морфофункціональні аспекти порушення гомеостазу організму» (номер державної реєстрації 0118U006611), а аспірантка

Максимова Олена Сергіївна виконала фрагмент, присвячений вивченню морфологічних особливостей регенерації шкіри, а також застосуванню збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесу регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії у віковому аспекті, що дозволяє рекомендувати застосування цього засобу для покращення процесів регенерації шкіри у осіб різного віку із хронічною гіперглікемією.

3. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів

Максимовою Оленою Сергіївною на значній кількості експериментального матеріалу, сучасними методами морфологічного та імуногістохімічного аналізів доповнені знання щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми за умов впливу хронічної гіперглікемії у віковому аспекті.

Встановлено, що хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів проліферації та диференціювання кератиноцитів, порушення утворення базальної мембрани епідермісу, що збільшує тривалість загоєння ранових дефектів у тварин усіх вікових груп. Затримується формування волосяного апарату шкіри та ремоделювання сполучної тканини дерми на її сосочковий та сітчастий шари. Сповільнюється елімінація запального інфільтрата у регенератах шкіри.

За допомогою використання імуногістохімічного аналізу зі застосуванням моноклонального антитіла $CD34^+$ було визначено, що за умов хронічної гіперглікемії відбувається пригнічення ангіогенезу у тварин усіх вікових груп.

Вивчено, що ін’єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося в інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран в усіх вікових групах тварин. Краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, що достовірно призвело до зменшення ранових поверхонь.

4. Практичне та теоретичне значення результатів дослідження

Аналіз дисертаційної роботи показав, що дослідження Максимової Олени Сергіївни доповнюють та поглиблюють знання, щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми за умов впливу хронічної гіперглікемії у віковому аспекті та при застосуванні аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми для нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенераторний процес. Отримані дані дають підставу для подальшого вивчення можливості використання аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесів регенерації шкіри після нанесення механічної травми в осіб різного віку із порушеним вуглеводним обміном.

Одержані результати дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес морфологічних кафедр: кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України; кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету; кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Дніпровського державного медичного університету; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Полтавського державного медичного університету; кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету МОЗ України; кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Вважаю, що отримані здобувачем результати дослідження практично значимі та можуть бути використані в нормальній анатомії, клінічній анатомії та оперативній хірургії, судинній хірургії, травматології і ортопедії, ендокринології, а також при написанні монографії, підручників та навчальних посібників.

5. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, що сформульовані в дисертації. Ступінь обґрунтованості та достовірності виконаних досліджень підтверджується достатньою кількістю експериментальних для обґрунтованого статистичного аналізу (270) білих лабораторних щурах – самцях віком від 4 до 22 місяців різного віку. Для дослідження структурних особливостей регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті, а також з'ясування можливості застосування збагаченої тромбоцитами плазми крові для корекції процесу регенерації шкіри щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу хронічної гіперглікемії був виконаний експеримент та використаний комплекс як традиційних, класичних (гістологічний, планіметричний, морфометричний, ультрамікроскопічний, статистичнй), так і сучасних (імуногістохімічний) методів дослідження. Вибрані методи дослідження високоінформативні і повністю достатні для адекватного вивчення. Статистичне опрацювання одержаних даних проводили за допомогою пакету програм SPSS (версія 17.0, США). Безперервні дані у манускрипті представлені у вигляді значень середньої арифметичної (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Значення середніх значень між групами порівнювали методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінність вважали достовірною, якщо значення P не перевищувало 0,05 ($P < 0,05$). Цифрові дані не тільки статистично оброблені, але й достатньо проаналізовані. Для обговорення та інтерпретації результатів дослідження використано достатню кількість (310) сучасних літературних джерел. Отже, з методичної точки зору, дисертація виконана правильно, а сформульовані автором основні положення та висновки є логічним наслідком результатів власних досліджень.

6. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та основних положень дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 179 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій українською та

англійською мовами, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури та додатків. Усі розділи написані грамотно, практично без стилістичних і редакційних огріхів, традиційно, стиль та оформлення роботи легко сприймається.

В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У «Вступі» на 6 сторінках авторка всебічно обґрунтовує актуальність теми дисертаційної роботи, вказує новизну і практичне значення, формулює мету та 4 завдань дослідження, визначає об’єкт та предмет дослідження, аргументовано вказує методи дослідження, зазначає свій особистий внесок, описує географію наукових конференцій з апробацією результатів виконаної наукової роботи.

Мета наукового дослідження містить в собі відповідь на питання, для чого воно проводиться, орієнтує дослідження на кінцевий результат, визначає логіку і спрямованість завдань, упорядковує різноманітні методи і методики.

Розділ «Огляд літератури» складається із 2 підрозділів. Зроблено аналіз світової літератури за останні роки щодо фізіологічної, репаративної регенерації шкіри в нормі та за умов хронічної гіперглікемії та регенераційної терапії PRP – технологій. Аналітичний огляд проведено кваліфіковано і критично, підкреслені основні питання, які потребують уточнення та подальшої розробки. Розділ займає 24 сторінки тексту, побудований логічно, читається і сприймається легко. Наприкінці огляду літератури Максимовою Оленою Сергіївною зроблено коротке узагальнення, що дозволяє краще зрозуміти не з’ясовані і мало вивчені аспекти цієї проблеми та перспективи подальших напрямків досліджень.

У другому розділі на 6 сторінках чітко описані матеріали та методи дослідження. Цей розділ містить 1 таблицю. Методи дослідження:

гістологічний, планіметричний, морфометричний, імуногістохімічний ультрамікроскопічний, статистичнй.

Розділ «Результати власних досліджень» - хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процеси кератинізації епідермісу, ремоделювання новоутвореної дерми та утворення волосяного апарату шкіри у щурів усіх вікових груп. Порушується формування базальної мембрани та диференціація кератиноцитів. Затримується елімінація запального інфільтрата у регенератах. Внаслідок пригнічення ангіогенезу у тварин усіх вікових груп відзначена низька щільність судин мікроциркуляторного русла. У щурів молодого віку на 7-му та 14-ту добу дослідження щільність судин не відрізнялася від показників щурів зрілого віку ($p = 0,4329$) та ($p = 0,5545$). У кінці експерименту щільність судин у регенератах шкіри щурів прогресивного віку була меншою на 36,28% ($p < 0,001$) відповідно контролю, а у щурів стабільного віку менше на 45,36% ($p < 0,001$). У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на 21-шу добу регенерації щільність судин була на 49,08% ($p < 0,0224$) менше контрольного показника.

Автором з’ясовано, що ін’єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран у тварин усіх вікових групах. Як результат, краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, про, що свідчило зменшення ранових поверхонь (площа рани у щурів молодого віку зменшилась на 93,78% ($p < 0,001$) на останньому терміні дослідження, а у щурів зрілого віку на 89,74% ($p < 0,001$) відповідно площі завданої рани). У щурів старечого віку введення збагаченої тромбоцитами плазми призвело до зменшення ранової поверхні на 80,78% ($p = 0,179$) відповідно початкового розміру дефекта.

Матеріали всіх розділів власних досліджень дисертанткою широко висвітлено в наукових статтях і тезах.

У Розділі «Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень» авторка узагальнює результати проведеного дослідження, критично оцінює існуючі відомості літератури та підкреслює власні нові результати виконаного наукового дослідження. Цей розділ займає 26 сторінок і містить 14 графіків.

У п’яти висновках дисертаційної роботи Максимової Олени Сергіївни здійснено послідовний, логічний та чіткий виклад отриманих результатів дослідження, які відповідають меті та завданням, поставленим і сформульованим у вступі.

Список літератури містить 310 джерел, оформлених згідно існуючих вимог.

7. Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

За результатами перевірки дисертаційної роботи Максимової Олени Сергіївни на наявність ознак академічного плагіату встановлено коректність посилань на першоджерела для текстових та ілюстративних запозичень; навмисних спотворень не виявлено. Звідси можна зробити висновок про відсутність порушень академічної доброчесності.

Основний зміст дисертаційної роботи викладений у 10 наукових працях, з яких 3 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття в журналі, що обліковується наукометричною базою Scopus, 1 патент на корисну модель України та 5 тез доповідей у матеріалах конференцій. Одна наукова праця опубліковано одноосібно.

Опубліковані наукові праці в повному обсязі відображають зміст дисертаційної роботи.

8. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації. Слід відмітити, що приницпових і серйозних недоліків стосовно змісту дисертаційної роботи не виявлено. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації не торкаються суті роботи і мають переважно рекомендаційний характер.

У процесі ознайомлення з роботою виникли такі непринципові зауваження та побажання:

1) У тексті дисертаційної роботи зустрічаються деякі непринципові орфографічні та граматичні помилки, які у цілому не впливають на зміст дисертації;
2) На мою думку, логічним би було розділити пункт 1.1 на два підпункти, окремо висвітливши дані про фізіологічну регенерацію шкіри та її особливості в умовах гіперглікемії;
3) У розділі «Огляд літератури» бажано додати інформацію щодо біологічно-активних субстанцій та інших речовин, препаратів, які впливають на процеси регенерації, крім збагаченої тромбоцитами плазми.

Крім того, розглядаючи матеріали дисертації, виникли окремі запитання, на які хотілось би почути відповідь, а саме:

1) Чи існують дані про вплив ЗТП на процеси регенерації шкіри у здорових пацієнтів та пацієнтів з іншою патологією окрім хронічної гіперглікемії?
2) Чому Ви не проводили дослідження з використанням плазми, збагаченої тромбоцитами у тварин без модельованої гіперглікемії?

9. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Максимової Олени Сергіївни «Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті» виконана на актуальну тему. За своїм змістом дисертація є завершеною самостійно виконаною кваліфікаційною науковою працею, в якій отримано нові теоретичні положення та науково обгрунтовані результати, що мають важливе наукове й практичне значення.

Дисертація виконана на високому науково-методичному рівні, її зміст відповідає обраній темі дослідження та спеціальності у галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина». Сформульовані в роботі наукові полодення, висновки та рекомендації є достовірними та всебічно обгрунтованими. Визначену мету дослідження досягнуто, а основні завдання вирішено. Опубліковані дисертанткою наукові праці повною мірою відображають зміст дисертації, головні результати дослідження, його наукову новизну, практичну значущість і особистий внесок здлбувача в науку. За своїм науковим рівнем, глибиною теоретичних розробок, практичним значенням отриманих результатів, висновків і рекомендацій, структурою, мовою та стилем викладення матеріалу дисертація Максимової Олени Сергіївни відповідає вимогам пункту 10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р. № 167 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ від 21.10.2020) та вимогам Наказу Міністерства освіти і науки Україні «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 р. (зі змінами від 31.05.2019 р.).

Викладене вище дозволяє зробити висновок про те, що дисертація «Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті» відповідає встановленим вимогам, а здобувач – Максимова Олена Сергіївна – заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:
Завідувач кафедри анатомії людини,
оперативної хірургії та топографічної
анатомії Запорізького державного
медичного університету
доктор медичних наук, професор О. А. Григор'єва

Власноручний підпис _____
ЗАТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
«___» _____ 20___ р. Підпис _____