

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри щелепно-лицевої хірургії та сучасних стоматологічних технологій Інституту післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Копчака Андрія Володимировича на дисертаційну роботу Дригваля Богдана Олександровича «Біосумісність та антибактеріальні властивості ортопедичних імплантатів з магнієвих сплавів, модифікованих з використанням плазмової електролітичної оксидації» подану до захисту на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Актуальність теми дисертації

Лікування травматичних ушкоджень і дефектів кісток залишається актуальною проблемою сучасної медицини. У багатьох країнах це є однією з провідних причин інвалідизації серед населення. Урбанізація, інтенсифікація виробничих процесів, криміналізація суспільства, спортивні травми, нещасні випадки, воєнні дії та інше, зумовлюють тенденцію до збільшення частоти і важкості травми, яка визначає важливий соціально-економічний аспект проблеми. До того ж, зі зростанням населення та збільшенням середнього віку в популяції, збільшується і кількість травм, пов'язаних з остеопорозом.

Враховуючи це, перед науковцями стоять виклики щодо покращення методів лікування та реабілітації пацієнтів з подібними ушкодженнями. В сучасній травматології, ортопедії, щелепно-лицевій та нейрохірургії широко застосовують металеві фіксатори, імплантати, ендопротези, що відрізняються за формою, розміром та конструктивними особливостями. Для виготовлення фіксаторів застосовують нержавіючу сталь, титан та його сплави, сплави цирконію, танталу тощо. Ці матеріали, згідно сучасних уявлень, повинні бути біосумісними (з хімічної, фізико-механічної та біологічної точки зору) не викликати токсичної та канцерогенної дії, а також будь-яких форм імунної відповіді. Однак, дослідження останніх років свідчать, що жоден з металевих імплантатів, які використовують в медицині не є абсолютно інертним і завжди вступає у взаємодію з оточуючим біологічним середовищем. Вихід металу з поверхні імплантату в живі тканини та викликані цим патологічні зміни

різного ступені вираженості описані для більшості сплавів, що застосовують на сьогоднішній день.

Доведено, що нержавіюча сталь, яку широко використовували для виготовлення фіксаторів в другій половині минулого століття, зазнає суттєвої біодеградації та викликає місцеву реакцію тканин, а метали, що входять до її складу (хром, нікель, молібден та залізо) демонструють певну ступінь токсичності. Тому на сьогоднішній день для лікування травматичних ушкоджень кісток частіше застосовують фіксатори, імплантати, ендопротези з титану та його сплавів, які поряд з хорошими механічними властивостями, мають високу корозійну стійкість та біосумісність, більшу ніж у медичної сталі. Титанові імплантати відрізняються легкістю та високою міцністю, мають відмінну стійкість до корозії та відзначаються високою біологічною сумісністю, що зменшує ризик відторгнення організмом. Крім того, існують інші металеві матеріали, такі як кобальт-хромові сплави, які можуть застосовуватися в певних медичних випадках. Обираючи матеріал для імплантату, лікарі керуються біологічною сумісністю, міцністю, стійкістю до корозії та іншими характеристиками, щоб забезпечити оптимальний вибір для конкретної медичної ситуації. Проте усі перелічені матеріали мають недолік, а саме необхідність в повторних оперативних втручаннях по видаленню металоконструкцій.

Біодеградуючі матеріали викликають значний інтерес через кілька ключових переваг. Вони дозволяють уникнути повторного оперативного втручання по видаленню, оскільки деградує в організмі з часом. Це особливо корисно для тимчасових імплантатів, зменшуючи стрес для пацієнтів та ризик ускладнень. Крім того, біодеградація фіксатору зменшує його негативний вплив на ріст і розвиток кістки у пацієнтів дитячого віку. Також біодеградуючі матеріали мають зазвичай більшу біологічну сумісність, що зменшує ризик відторгнення тканинами організму та сприяє кращому зціленню. Деякі з них сприяють стимулюванню природних процесів відновлення пошкоджених тканин. Універсальність застосування цих імплантатів в хірургічних процедурах робить їх важливими для багатьох медичних сценаріїв, сприяючи покращенню процесів зцілення та лікування пацієнтів.

Такий матеріал як магній є важливим в імплантології з кількох причин, а саме його здатність до біодеградації робить його потенційним кандидатом на роль біодеградуючого матеріалу, особливо у випадках використання тимчасових імплантатів. Його властивості біологічної сумісності з організмом роблять його більш прийнятним для макроорганізму порівняно з іншими матеріалами. Механічні властивості та структурна магнію мають певну схожість з кістковою тканиною, що робить його привабливим для застосування в ортопедії, травматології та щелепно-лицевій хірургії. Крім цього, магнієві сплави мають антимікробні властивості, що може бути корисним у мінімізації інфекційних ускладнень після хірургічних втручань. Проте, існують недоліки, такі як контроль швидкості розкладання та стійкість матеріалу, які потребують подальших досліджень для ефективного використання магнію в медицині.

Модифікація поверхні магнієвих імплантатів за допомогою плазмової електролітичної оксидації відкриває нові перспективи у сфері медичних застосувань. Цей процес дозволяє створити оксидний шар на поверхні імплантату, що сприяє збільшенню біологічної сумісності, покращує адгезію тканин до імплантату, сприяє швидшому зростанню нової кісткової тканини та мінімізує ризик відторгнення організмом. Крім того, така модифікація дозволяє покращити механічні властивості імплантату, знижує схильність до корозії, що сприяє тривалішому та стійкому використанню в організмі.

Отже, на сьогоднішній день, проведення експериментальних досліджень, спрямованих на вивчення біосумісності та антибактеріальних властивостей ортопедичних імплантатів з магнієвих сплавів, модифікованих з використанням плазмової електролітичної оксидації є актуальними та значущими.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота була виконана відповідно до наукового плану Центру біомедичних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету, а дисертант брав участь у виконанні держбюджетних тем,

а саме «Біологічна ефективність застосування плазмової електролітичної оксидації та золь-гель депозиції для створення функціональної поверхні імплантатів» (номер державної реєстрації 0119U100823), «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигеназ» (номер державної реєстрації 0122U1001 11), «Визначення остеокондуктивних та остеоіндуктивних властивостей полімер-нано-гідроксиапатитних біодеградуючих скафолдів» (номер державної реєстрації 0122U000770), а також проєкту Горизонт-2020 MSCA-RISE «Nanostructural surface development for dental implant manufacturing» (Номер проєкту – 777926).

3. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

У ході дослідження, автором вперше були встановлені оптимальні параметри силікатних розчинів, зокрема, тих, що базуються на гідроксиді натрію та кальцію, а використання методики плазмової електролітичної оксидації дозволило модифікувати поверхню магнієвих імплантатів. Під час досліджень дисертант підтвердив вплив складу електроліту та напруги на процеси ПЕО, встановивши, що ці параметри безпосередньо впливають на фізико-хімічні характеристики, структуру та кількість дефектів оксидного шару на поверхні магнієвих імплантатів.

Подальші дослідження вперше показали, що модифіковані поверхні магнієвих імплантатів володіють антибактеріальними властивостями стосовно ряду мікроорганізмів, здатних спричиняти інфекції кісткової тканини. Крім того, автор дослідив вплив модифікованих поверхонь, отриманих в різних силікатних розчинах при різних режимах напруги (250 В та 300 В), на їх взаємодію з елементами сполучної тканини, а також визначив токсичний вплив на органи-мішені, зокрема печінку та нирки.

У результаті проведених експериментальних дослідженнях вперше було доведено, що зразки, модифіковані у силікатному розчині $\text{Na}_2\text{SiO}_3 + \text{NH}_4\text{F} + \text{Ca}(\text{OH})_2$ (при напрузі 300 В), найбільшою мірою відповідають вимогам біосумісності та не мають токсичного впливу на тканини печінки та нирок.

4. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Дисертаційне дослідження дозволило автору модифікувати магнієві імпланти утворивши оксидну поверхню за допомогою плазмової електролітичної оксидації. В ході виконання роботи дисертантом було встановлено, що під час процесу плазмової електролітичної оксидації такі параметри, як напруга та склад електроліту, мають вирішальний вплив на утворення оксидного шару на поверхні матеріалу. Вони визначають товщину, структуру, фізико-хімічні та механічні властивості цього шару. Висока чи низька напруга, а також вміст різних компонентів у електроліті можуть змінювати якість та товщину утвореного шару. Крім того, ці параметри контролюють швидкість росту оксидного шару на поверхні матеріалу, що визначає можливість отримати певний тип та якість шару для відповідних застосувань, а оптимізація цих параметрів у процесі ПЕО є ключовою для досягнення бажаних результатів щодо контролю швидкості деградації.

Результати *in-vivo* досліджень вказують на особливості взаємодії модифікованих магнієвих імплантів за допомогою плазмової електролітичної оксидації в силікатних розчинах на основі гідроксиду натрію та кальцію, з клітинами сполучної тканини. Отримані результати можуть мати важливе значення для подальших досліджень у напрямку лікування пошкоджених кісткових тканин.

Результати досліджень з використанням культур клітин продемонстрували вплив властивостей поверхні на процеси адгезії та проліферації клітин. Отримані дані відкривають перспективи для розробки нових типів імплантів або модифікації наявних з метою поліпшення їх характеристик під використання в якості тимчасових металоконструкцій в імплантології.

Результати та матеріали дисертаційного дослідження використовуються у навчальній та науковій роботі на кафедрі стоматології післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету (м. Запоріжжя), кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету (м. Полтава) та кафедрі нормальної та патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (м. Харків).

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

Основні положення і висновки роботи базуються на серії експериментальних досліджень виконаних автором. Для досягнення поставленої мети та вирішення поставленої наукової задачі, автором було визначено конкретні завдання та використані сучасні методи дослідження.

Обґрунтованість наукових положень та висновків підтверджена великою кількістю вивчених фахових літературних джерел, критичною їх інтерпретацією, вірно побудованим дизайном дослідження, сучасною методологією дисертаційної роботи.

Відповідно до розробленого дизайну дослідження, автором проведено серію експериментів *in vivo in vitro*, які дозволяли охарактеризувати різні аспекти взаємодії магнієвих імплантатів у біологічному середовищі. Сформульовані автором, в ході послідовного виконання основних етапів роботи наукові положення, висновки та рекомендації, мають високий рівень обґрунтованості та достовірності, вони логічно випливають з отриманих результатів і мають чітке обґрунтування. Висновки дисертації, відповідають поставленим меті та завданням дослідження. Вони ґрунтуються на комплексному аналізі експериментальних даних, системному дослідженні літературних джерел та використанні сучасних методик наукових досліджень.

Модель експерименту, поводження з тваринами та експериментальні процедури відповідали встановленим принципам догляду за лабораторними тваринами та їх використання у дослідженнях без порушень морально-етичних норм. Процедури були затверджені комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень ННМІ Сумського державного університету. Утримування тварин та експерименти проводилися згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин» які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), «Етичних принципів та

вказівок для експериментів на тваринах», 3-є видання (Швейцарія, 2005 р.), Гельсінською декларацією Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000), типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р., Директиви 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради «Про захист тварин, що використовуються в наукових цілях» (2010).

Ретельна перевірка та валідація отриманих результатів проводилася шляхом докладного порівняння та підтвердження з даними попередніх досліджень, а також використанням визнаних методів аналізу та обробки інформації.

Вірогідність отриманих автором результатів підтверджена їх варіаційно-статистичним аналізом, що передбачав визначення характеру розподілу у вибірці, розрахунок середніх та відносних величин, а також проведення оцінки вірогідності різниці отриманих результатів поміж порівнюваними групами із використанням непараметричних критеріїв та дисперсійного аналізу (ANOVA).

Отримані узагальнення є важливим внеском у відповідну наукову галузь та можуть послужити основою для подальших досліджень та практичних застосувань.

6. Структура та зміст дисертації

Структура та зміст дисертаційної роботи системні та логічно побудовані. Дисертаційна робота написана державною мовою та викладена на 124 сторінках, включає в себе чітко визначені розділи, які послідовно розкривають обрану проблематику, методи дослідження, аналіз отриманих результатів та висновки. Кожен розділ відображає глибоке розуміння автором теми дослідження, підтвержене якісними даними та аргументованими висновками. Матеріали ілюстровані 30 рисунками і 3 таблицями. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури (4 підрозділи), матеріалів та методів дослідження (5 підрозділів), результатів власних досліджень (3 підрозділи), аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків. Рукопис містить список зі 180 джерел цитованої літератури, переважно за останні 10 років.

Анотація викладена двома мовами. Текст анотації представляє основні результати досліджень, ключові слова та приведені дані щодо публікацій автора та апробацію результатів дисертації.

У вступі дисертант обґрунтовує актуальність теми дослідження, формулює мету та завдання, чітко описує наукову новизну і практичне значення результатів дослідження.

Розділ "Огляд літератури" займає 20 сторінок тексту та складається з 4 підрозділів, у яких зроблений аналіз літератури у якому висвітлені відомості пов'язані з імплантатами та імплантологією, біодеградуєчими імплантатами, перевагами та недоліками таких матеріалів та дані щодо можливостей модифікації покриттів, а саме різновиди покриттів та методи їх створення.

Розділ "Матеріали і методи дослідження" викладений на 11 сторінках та містить дизайн експерименту та обрані методи дослідження.

Шляхом використання комплексу сучасних методів дослідження (сканувальну електронну мікроскопію, рентгенівську енергодисперсійну спектроскопію, аналіз поперечного перерізу та характеристики зносу, а також визначення гідрофільності та гідрофобності поверхні) автор визначає базові характеристики імплантатів, що необхідні для їх ефективного використання в біологічних середовищах. Автор провів аналіз антимікробної активності та оцінка токсичності і біосумісності за допомогою культур клітин, що є стандартними і загально визнаними підходами до доклінічного вивчення нових матеріалів на лікувальних пристроїв. В окремому підрозділі автор описує статистичні методи аналізу отриманих цифрових даних: аналіз, розрахунки та графіки були створені за допомогою програмного пакету статистики GraphPad Prism® (версія 8.0) на основі аналізу характеру розподілу у вибірці, непараметричних критеріїв та дисперсійного аналізу.

Розділ "Результати власних досліджень" викладений на 27 сторінках та включає в себе три підрозділи. В цілому, в даному розділі автор детально на високому методичному рівні висвітлює результати аналізу фізико-хімічних та структурних властивостей модифікованих поверхонь магнієвих зразків, демонструє вплив складу електроліту та режимів плазмової електролітичної оксидації на формування покриття,

описує результати досліджень біологічних характеристик отриманих модифікованих поверхонь та висвітлює результати експериментальних досліджень *in vivo* та *in vitro*. Важливою особливістю експерименту на тваринах є вивчення потенційних токсичних ефектів на локальному і системному рівні та застосування імуногісто-хімічного аналізу для вивчення глибоких механізмів взаємодії імплантату з біологічними тканинами.

В розділі "Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень" автор проводить ретельний аналіз отриманих результатів, порівнюючи їх з результатами представленими в науковій літературі та обговорює їх.

Робота закінчується шістьма висновками, які автор сформулював та науково обґрунтував, які логічно витікають з результатів, повністю відповідають поставленій меті та завданням і узагальнюють інформацію отриману в результати досліджень.

Список використаних джерел складає 180 джерел та сформований відповідно до вимог у порядку появи посилань у тексті. В кінці рукопису наявні додатки, які включають список опублікованих праць за темою дисертації, перелік апробацій результатів дисертації та копії актів впровадження.

Дисертаційна робота повністю відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, відповідно Постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії»

7. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

За результатами дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових робіт, з них 3 статті, що індексується наукометричною базою даних Scopus та 11 тез доповідей у матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій.

8. Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях

Основні положення та результати роботи оприлюднені на 11 міжнародних конференцій англійською мовою. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць: 3 статті, що індексується наукометричною базою даних Scopus (1, 3

та 4 кuartилів), 11 тез доповідей у матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій (4 індексуються наукометричною базою даних Scopus). Автором особисто апробовано результати дисертаційної роботи на численних конференціях як в Україні, так і за кордоном.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії «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 від 12 січня 2022 р. № 44.

9. Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

В дисертаційній роботі Дригваля Богдана Олександровича на тему «Біосумісність та антибактеріальні властивості ортопедичних імплантатів з магнієвих сплавів, модифікованих з використанням плазмової електролітичної оксидзації» не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи будь-яких інших порушень, які могли б поставити під сумнів самостійність дослідження, виконаного автором дисертації. Оригінальність тексту підтверджена протоколом перевірки роботи системою StrikePlagiarism Сумського державного університету від 14.12.2023 р., всі цитовані джерела належним чином вказані і зазначені у списку використаних джерел.

10. Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження

Дискретних принципових недоліків щодо змісту, структури, обсягу, оформлення, науково-теоретичного та практичного значення, висновків представленої дисертаційної роботи не виявлено. Однак, є окремі зауваження, що не носять принципового характеру і можуть бути враховані при подальших дослідженнях:

1. Окремі частини огляду літератури, зокрема підрозділи 1.3, 1.4 перенасичені інформацією технічного характеру, що важко сприймається лікарем. Їх

можна було б скоротити на користь інформації про медичне і біологічне значення тих чи інших характеристик сплавів металів.

2. Зважаючи на наявність корозії сплавів магнію, рекомендовано було б провести дослідження механічних властивостей імплантатів в цілому, і нового покриття зокрема. Важливо знати, як зміна режиму плазменої оксидації впливає на жорсткість, міцність та твердість імплантату.

3. При дослідженні реакції сполучної тканини доцільно було б додатково використати забарвлення пікрофуксином за ван Гізон, що є традиційним в дослідженнях подібного типу.

4. У розділі Результати, автор вказує «... жодної запальної реакції або несумісності тканин з матеріалом імплантату не спостерігалось», хоча на рисунку 3.21 він її чітко демонструє та описує.

5. У розділі результатів «3.3.3 Імуногістохімічне дослідження» відсутня інформація щодо термінів дослідження та щодо різниці у відповідних серіях з пролонгацією дослідження. Також, не має згадок про контрольну групу.

Виявлені у процесі рецензування роботи недоліки не носять принципового характеру і не впливають на достовірність результатів та висновків та мають лише рекомендаційний характер, тому не впливають на науковий рівень та практичну цінність даної дисертаційної роботи.

У порядку дискусії бажано б почути відповідь на такі питання:

1. На Вашу думку, яким типом лейкоцитів найчастіше була представлена запальна інфільтрація в тканинах з ділянками імплантації зразків на 7 та 31 дні?

2. Сполучна тканина в організмі складається з різних клітин і елементів матриці. У Вашому дослідженні, Ви приділили достатню увагу макрофагам та міофібробластам. Чому Ви не вивчали поведінку саме фібробластів, оскільки саме вони сприяють структурній цілісності тканин та відповідають за синтез і виробництво колагену, фібронектину та інших?

3. Чи можуть бути результати отримані Вами при вивченні сполучної тканини екстрапальовані на кісткову тканину? Чому Ви не проводили дослідження безпосередньо на кістках щурів?

4. Чим Ви можете пояснити зниження кількості CD68+ макрофагів на тлі зростання кількості CD163+ клітин у зразках C2 300 відносно серії C1 250?

11. Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Дригваля Богдана Олександровича на тему «Біосумісність та антибактеріальні властивості ортопедичних імплантатів з магнієвих сплавів, модифікованих з використанням плазмової електролітичної оксидації» за актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю наукових положень і висновків, їх достовірністю та повною викладу в опублікованих працях є завершеною науково-дослідною роботою. Проведені дослідження вирішують важливе завдання, що стосується біосумісності та антибактеріальних властивостей ортопедичних імплантатів з магнієвих сплавів та створення нових біодеградуємих імплантатів в ортопедії.

Дисертація Дригваля Богдана Олександровича повністю відповідає п. 6, 7, 8, 9 вимог Постанови Кабінету Міністрів України № 44. від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а дисертант, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

Доктор медичних наук, професор,
завідувача кафедри щелепно-лицевої хірургії
та сучасних стоматологічних технологій
Інституту післядипломної освіти
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця

Андрій КОПЧАК

