

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Черемісіної Валентини Федорівни** на тему: «**Патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання сполучної тканини при запальних захворюваннях пародонта**», подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при медичному інституті Сумського державного університету МОН України

1. Актуальність обраної теми дисертації

Запалення лежить в основі переважної більшості існуючих хвороб людини, воно є основним типовим патологічним процесом. Пусковою системою запалення є сполучна тканина. Сполучнотканинні клітинні елементи у взаємодії з іншими органами і фізіологічними системами беруть участь у формуванні реактивності організму. Вони володіють фагоцитарною активністю, бар'єрною і антитоксичною здатністю, забезпечують інтенсивність загоєння ран, виконуючи захисну, трофічну, опорну, пластичну функції.

Епідеміологічні дослідження останніх років свідчать про високу поширеність основних стоматологічних захворювань населення.

На сьогодні запальні захворювання тканин пародонта являють собою одну із найбільш складних проблем сучасної патофізіології та стоматології. Великий відсоток втрати зубів у пацієнтів, шкідливий вплив осередків пародонтальної інфекції на організм визначають як медичну, так і соціальну значущість цієї проблеми. За даними ВООЗ більше 82 % населення страждають на запальні захворювання тканин пародонта. Разом з тим, питання, що стосуються механізмів руйнування та відновлення сполучної тканини пародонта при запальних захворюваннях, недостатньо висвітлено в науковій літературі.

Особливості сполучної тканини і різні прояви її порушень можуть складати основу формування та прогресування захворювань тканин пародонту. Відповідно до

цього, інтерес до сполучної тканини та дослідження конкретних механізмів участі сполучної тканини пародонта, які можуть попереджувати передчасне її руйнування та сприяти відновленню, на сьогодні є надзвичайно актуальним.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Національного фармацевтичного університету МОЗ України (протокол № 1 від 24 січня 2016 р.). Дисертацію виконано згідно з планом наукових досліджень Національного фармацевтичного університету МОЗ України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідної теми кафедри «Клітинні та молекулярні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (№ держ. реєстрації 0115U000966). Дисертантка є співвиконавцем цієї теми.

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, а також вірогідність отриманих результатів

Дисертантом обрано патофізіологічні, біохімічні, імуноферментні, імунологічні, гематологічні, гістологічні, гістохімічні, мікроскопічні, статистичні методи дослідження, які виконані на достатньому методичному рівні та дозволяють повністю досягти поставленої мети та завдань.

Експериментальні дослідження виконано на 250 білих нелінійних щурах масою від 240,0 до 360,0 г та 10 кролях породи Шиншила масою 2,5–3,0 кг, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ.

Робота виконана зі застосуванням приладів, які пройшли державний метрологічний контроль. Матеріали, використані в дисертації, повністю відповідають вимогам, що висуваються до первинної документації, розглянуті та затверджені комісією з етичних питань та біоетики.

Використані методи дослідження відповідають сучасним вимогам.

Методики дослідження, що описані в роботі, можуть бути відтвореними і повністю відповідають меті та завданням дослідження.

Результати дисертаційного дослідження добре й зрозуміло представлено у

таблицях. Цифровий матеріал повністю базується на фактичних даних, підданий статистичному аналізу, відповідає первинній документації, що забезпечує достовірність отриманих результатів. Статистичне опрацювання даних проведено в повному обсязі.

Автором представлені положення, висновки та рекомендації, що відповідають отриманим результатам і являють собою логічний наслідок послідовно виконаних завдань дослідження. Висновки та практичні рекомендації чітко сформульовані, обґрунтовані на підставі рівня сучасної патофізіології та співставлені з літературними джерелами. Високий ступінь статистичної обґрунтованості й вірогідності наукових положень, висновків та практичних рекомендацій обумовлений достатньою кількістю матеріалу дослідження із застосуванням комплексу експериментальних методів дослідження.

Отримані результати дисертаційної роботи є актуальними, важливими та мають суттєву наукову новизну, що видно з достатньої кількості наведених та обговорених літературних джерел.

Дисертацію побудовано за класичною схемою. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, семи розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і додатків. Використано 352 найменування джерел літератури: 184 кирилицею, 168 латиницею. Дисертаційну роботу викладено на 292 сторінках комп'ютерного тексту. Роботу ілюстровано 39 таблицями, 49 рисунками.

4. Характеристика змісту роботи

Анотація оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, наведено список праць, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації.

У вступі відображено актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовано мету та завдання дослідження, визначено наукову новизну роботи та її практичне значення, надана інформація про особистий внесок здобувача, апробацію результатів дослідження, публікації, обсяг і структуру дисертації.

В «Огляді літератури», який складається із 3 підрозділів і викладений на 48 сторінках тексту, проаналізовано значний обсяг даних сучасних уявлень щодо сполучної тканини як цілісної фізіологічної системи організму, представлено анатомо-фізіологічні особливості сполучної тканини, сучасні уявлення про резорбцію та ремоделювання кісткової тканини. Дисертанткою висвітлено етіологію та патогенез запальних захворювань пародонта, а також корекцію запальних захворювань пародонта.

Ознайомлення з матеріалами розділу дозволяє зробити висновок, що авторка здатна кваліфіковано аналізувати інформацію літературних джерел за своїм науковим напрямком. Дисертанткою чітко окреслено основні проблеми, які недостатньо вивчені. Авторка виявила високий рівень теоретичної підготовки та обізнаності про результати наукових досліджень інших учених із зазначених у дисертації наукових питань. Мета і завдання дослідження є логічними висновками основних положень огляду літератури.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» наведено кількість та характеристику досліджуваних тварин, зазначено умови роботи з експериментальними тваринами згідно зі стандартними нормативами біоетики.

Застосовані авторкою експериментальні моделі та методи верифікації показників, що досліджувалися, є сучасними і дозволили успішно вирішити поставлені у дисертації завдання. Результати наукових досліджень підлягали статистичному опрацюванню за допомогою наведених авторкою стандартних методів. Суттєвих зауважень до цього розділу не виникло.

Розділ 3 присвячений вивченню фізіологічної системи сполучної тканини щурів та її реакції на гостре локальне запалення в різних органах, в якому авторкою надано інформацію щодо фазових змін сполучної тканини щурів внаслідок місцевого пошкодження. Висвітлено етапність процесів, що відбуваються у віддалених від вогнища запалення органах, що відповідає класичній схемі розвитку запальної реакції. Показано, що характерною гістологічною і імуногістохімічною ознакою при гінгівіті є пріоритетна участь у запаленні Т-лімфоцитів, сегментоядерних нейтрофілів та Т-лімфоцитарний периваскуліт, а при пародонтиті характерною

морфологічною ознакою є пошкодження слинних залоз та перигранулярні інфільтрати.

Розділ 4 містить матеріали дослідження щодо ролі обміну мікроелементів та гормонів у механізмах резорбції та ремоделювання сполучної тканини при захворюваннях пародонта.

Встановлено значні зсуви кальцій-фосфорного обміну в щурів з альвеолітом та його участь у резорбції сполучної тканини пародонта, визначено концентрації паратиреоїдного гормону, кальцитоніну та естрадіолу в крові щурів із захворюваннями тканин пародонта, що свідчать про значення гормонального фактору в механізмах розвитку порушень метаболізму сполучної тканини пародонта. Проте вміст кальцитоніну та естрадіолу не має вирішального значення в механізмах резорбції м'яких тканин пародонта. Встановлено негативний кореляційний взаємозв'язок між рівнем іонізованого кальцію і вмістом кальцитоніну в сироватці крові у щурів з альвеолітом. Показано, що гіпокупремія та гіпоцинкемія не обтяжує процеси резорбції сполучної тканини у щурів з пародонтитом, а гіпокупремія у щурів з гінгівітом може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес дозрівання протеогліканів. Іони міді є необхідним матеріалом як в процесі резорбції, так і в процесі ремоделювання при захворюваннях пародонта.

У розділі 5 дисертанткою надано дані стосовно вивчення кислотно-основного стану крові та змішаної слини порожнини рота в щурів із захворюваннями пародонта. Авторкою доведено, що визначення рН ротової рідини, як показник своєчасної діагностики порушень тканинного метаболізму та контролю ефективності фармакотерапії запальних захворювань пародонта, має суттєве практичне значення.

У розділі 6 авторкою досліджено особливості змін функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні порушень сполучної тканини пародонта. Встановлено, що у щурів з експериментальним пародонтитом відбувається зниження агрегаційної активності тромбоцитів. Порушення стану сполучної тканини пародонта проявляються перебудовою

судинного басейну, порушенням мікроциркуляції крові, зривом регуляторних механізмів репарації. У щурів з гінгівітом рівень прозапального ІЛ-6 зменшується та підвищується рівень протизапального цитокіна ІЛ-4.

У розділі 7 дисертанткою вивчено обмінні процеси сполучної тканини організма та їх роль у резорбції та ремоделюванні в тканинах пародонта. Встановлено, що при низькій інтенсивності запального процесу в пародонті (альвеоліт) синтез та деградація колагену знаходиться у відносній рівновазі, а підвищення його інтенсивності (гінгівіт, і, особливо, пародонтит) – призводить до порушення цієї рівноваги. Концентрація вільного та пептидзв'язаного оксипроліну в сироватці крові вища в групах з більш тяжким протіканням запального процесу в пародонті. При пародонтиті у кролів відбувається активація перекисного окиснення ліпідів і зниження активності антиоксидантних ферментних систем. Зміни кількості еритроцитів, гемоглобіну і еритроцитарних індексів при гінгівіті обумовлені мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, а також змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові. Встановлено, що захворювання сполучної тканини пародонту є енергозалежними процесами, що проявляється у вигляді зниження концентрації АТФ на фоні підвищення АДФ та АМФ відносно показників контрольної групи. Мітохондрії енергетично забезпечують процеси резорбції та ремоделювання тканин пародонта.

У розділі 8 висвітлено патогенетичні особливості активності цитокінів та механізми дії регуляторного шляху rank-rankl-орг при запальних захворюваннях пародонта. Встановлено, що при пародонтиті підвищуються рівні RANKL та прозапального ІЛ-17, а вміст остеопротегерину знижується. Виявлено кореляційні зв'язки між рівнем інтерлейкіну-17, RANKL та остеопрогерину, які свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів у механізмах резорбції та ремоделювання при пародонтиті.

Розділ 9 присвячено морфологічному вивченню експериментального матеріалу, отриманого у щурів та кролів із захворюваннями пародонта, в якому авторкою показано активну участь остеокластів, остеобластів та фібробластів в механізмах

резорбції та ремоделювання м'яких та кісткових тканин пародонта.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» подано професійний аналіз та синтез отриманих результатів, представлених в попередніх розділах роботи з доцільним порівнянням з даними літератури. Обговорення результатів дозволило автору підсумувати, що проведені дослідження вирішили основні завдання дисертації.

Висновки дисертаційної роботи цілком обґрунтовані результатами власних досліджень, вони є конкретними, сформульовані чітко та логічно відповідно до вирішених авторкою основних задач дослідження. За своїм змістом вони є цілком виваженими та значущими.

Список використаних джерел повною мірою відображає інформацію з обраного для дисертаційного дослідження наукового напрямку і свідчить про високу професійну ерудицію дисертантки.

Вважаю, що отримані в роботі наукові дані обґрунтовані, мета, поставлена в роботі, досягнута, завдання вирішені.

8. Наукова новизна дисертаційної роботи. За результатами проведеного дослідження авторка вперше встановила, що за експериментального моделювання гострого скипидарного запалення шкіри спини щурів реагує сполучна тканина усіх органів і тканин організму.

Аналізуючи результати імуногістохімічних досліджень, нею було встановлено, що в лейкоцитарному інфільтраті при пародонтиті з явною перевагою представлені CD4+ та CD8+ Т-лімфоцити. Агресія при пародонтиті направлена на слинні залози, при гінгівіті – на кровоносні судини.

Уперше показаний механізм впливу тромбоцитарного компонента системи гемостазу на активацію проліферативних процесів у сполучній тканині пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті. Встановлені механізми порушення стану кісткової тканини пародонта, які пов'язані зі зниженням функціональної активності тромбоцитів при участі різних концентрацій індуктора агрегації (АДФ: 2,5, 5 та 10 мкмоль/л). Показана роль цитокінів у механізмах регуляції резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта. Визначено внесок дисбалансу

міжклітинних медіаторів у розвиток системної відповіді сполучної тканини на пошкодження.

Уперше показано, що біохімічні маркери кісткового метаболізму (кальцій, фосфор, мідь, цинк) є важливими медіаторами в формуванні кісткової тканини. Порушення балансу мікроелементів в організмі є одним із етіологічних чинників для змін ремоделювання кісткової тканини та мають велике значення для розуміння сутності метаболічних процесів. Уперше показано, що значні зсуви кальцій-фосфорного обміну спостерігаються у щурів з пародонтитом. Мідь є необхідним матеріалом як в фазі резорбції, так і в фазі ремоделювання сполучної тканини пародонта при запальних захворюваннях. Гіпокупремія та гіпоцинкемія практично не обтяжують резорбцію кісткової тканини при альвеоліті та гінгівіті, а при пародонтиті гіпокупремія може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес їх дозрівання. Показано, що зміни в крові щурів вмісту паратиреоїдного гормону та кальцитоніну можуть характеризувати їх участь у процесах резорбції та ремоделювання, проте концентрація естрадіолу в крові самиць-щурів не впливає на процеси резорбції та ремоделювання тканин пародонта.

Авторкою показано, що в патогенезі резорбції та ремоделювання тканин пародонта має місце широкий спектр кисневозалежних механізмів.

Дисертанткою вперше вивчено роль регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG при запальних захворюваннях пародонта; встановлено його активацію та наявність взаємозв'язку з про- та протизапальними цитокінами, у тому числі позитивна кореляція між RANKL та профібротичним TGF- β 1, яка найбільш виражена при пародонтиті, найменш – при альвеоліті.

9. Практичне значення одержаних результатів полягає в отриманні нових знань про патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання системи сполучної тканини пародонта при запальних захворюваннях. Особливе значення має встановлення ролі біохімічних маркерів кісткового метаболізму, гормонального фактору, тромбоцитарної ланки гемостазу та міжклітинних медіаторів у формуванні відповіді сполучної тканини на пошкодження.

Матеріали роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної

фізіології: Національного фармацевтичного університету, м. Харків; ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава; Запорізького державного медичного університету, м. Запоріжжя; Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці; Івано-Франківського національного медичного університету, м. Івано-Франківськ; на кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В. В. Підвисоцького Одеського державного медичного університету, м. Одеса; Чорноморського національного університету ім. Петра Могили, м. Миколаїв; ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського» МОЗ України, м. Тернопіль.

10. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 40 наукових робіт, зокрема 23 статті, з яких 3 статті – у виданнях, внесених до науково-метричної бази SCOPUS, 1 стаття – у виданні, внесеному до науково-метричної бази Web of science, 13 статей – у наукових фахових виданнях України, що реферуються міжнародними науково-метричними базами даних РІНЦ, Index Copernicus International, Google Scholar, 6 статей – у наукових закордонних виданнях, оформлений патент на корисну модель «Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) № 129440», 16 тез – у матеріалах конгресів і конференцій з міжнародною участю.

У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи.

Автореферат дисертації за змістом і формою відповідає вимогам МОН України і містить усі основні положення дисертації.

11. Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації та автореферату

Дисертаційна робота дає привід для наукової дискусії та має деякі недоліки. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації, не торкаються суті роботи і мають переважно рекомендаційний характер.

Зауваження та побажання:

1. При вивченні процесів обміну у сполучній тканині дисертантка особливу увагу надає тільки оксипроліну. Бажано було б представити дані щодо ролі ферментів, гормонів, вітамінів.

2. У переліку умовних скорочень відсутні деякі скорочення.

3. У списку використаних джерел зустрічаються застарілі наукові праці.

4. Є незначна кількість орфографічних та стилістичних помилок.

Зазначені недоліки та зауваження не стосуються змісту дисертації по суті та ніяким чином не зменшують її загальну високу позитивну оцінку.

Окрім того, хотілося б почути точку зору дисертанта на питання, що виникли в процесі рецензування:

1. У дисертації великий розділ присвячено вивченню функціональної активності тромбоцитів, причому з різною концентрацією індуктора агрегації. Яка ж концентрація індуктора агрегації має значення?

2. Які результати Ви отримали при вивченні регуляторного шляху RANK-RANRL-OPG, яка його роль у механізмах резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонту?

3. Яке значення адипокінів та вісфатину у регуляції кісткового ремоделювання?

4. Скажіть, будь ласка, яку роль має остеопротегерин у процесах резорбції та ремоделювання?

5. Чому при вивченні гормонального фактору в механізмах резорбції та ремоделювання зупинились тільки на паратиреоїдному гормоні, кальцитоніні та естрадіолі? Яке значення цих гормонів?

12. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам

Дисертація Черемісіної Валентини Федорівни «Патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання сполучної тканини при запальних захворюваннях пародонта» відповідає паспорту наукової спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія, затвердженому Постановою ВАК України від 11.09.2002 р.

Робота є ґрунтовним завершеним науковим дослідженням, кваліфікаційною науковою працею, в якій містяться нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень, які розв'язують конкретну наукову проблему,

що має істотне значення для медичної науки в галузі патологічної фізіології, що полягає у встановленні ролі сполучної тканини пародонта в розвитку місцевих запальних процесів та встановленні патогенетичних особливостей резорбції та ремоделювання при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті.

За актуальністю, науковою новизною, теоретичною і практичною цінністю отриманих результатів, науково-методичним рівнем дисертація відповідає вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. за № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук, а її автор, Черемісіна Валентина Федорівна, безперечно заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент,
доктор медичних наук, професор,
професор кафедри патологічної фізіології
імені Д. О. Альперна Харківського
національного медичного університету
МОЗ України



G. N. Babachenko

О. М. Шевченко