

ОТЗЫВ

официального оппонента, доцента, и.о. заведующего кафедрой биологической химии (биохимии) им. Р.И. Лифшица ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора медицинских наук, Сеницкого Антона Ивановича на диссертационную работу Островской Ирины Геннадьевны «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов», представленную к защите в диссертационный совет Д 208.084.05 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

В настоящее время проведены протеомные исследования на образцах пульпы зуба человека, которые установили значительное количество белков и пептидов, характерных только для пульпы зуба, а также встречающихся в дентине зуба и плазме крови. Вместе с тем, отсутствуют сведения об их биологической роли в обеспечении жизнедеятельности клеток пульпы и её защите от раздражителей, вызываемых воздействием химических, биологических и социальных факторов. Белки и пептиды выполняют различные функции в живом организме, обеспечивают постоянство структуры клеток и тканевого матрикса, а также являются участниками многих биохимических процессов. Поэтому установление их роли в процессах протеолиза, регенерации, регуляции метаболических процессов, происходящих в комплексе пульпа-периодонт определяет актуальность данного исследования. Для улучшения качества жизни стоматологическим пациентам нужны новые и доступные показатели, диагностирующие нозологию для проведения адекватного лечения. Помимо этого, необходимо понимание процессов, определяющих жизнеспособность тканей зуба для предотвращения врачебных ошибок на этапе планирования лечебных мероприятий. Особую сложность представляет лечение зубов у педиатрического населения, где в силу их возраста затруднено получение подробного анамнеза и проведение дифференциальной диагностики. Таким образом, актуальность диссертации И.Г. Островской не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Представленная диссертационная работа отличается оригинальностью и новизной направления, что определяет уровень её значимости и важности. Автором впервые были проведены комплексные исследования, направленные на изучение биологических процессов с участием белков и пептидов в пульпе зуба. В представленной работе впервые продемонстрирована реакция пульпы зуба на различные воздействия, что является несомненным научным достижением. Было показано, что при развитии патологии белки и пептиды в десневой жидкости

отражают не только состояние периодонта, но и пульпы зуба. Эти сведения позволили И.Г. Островской апробировать и внедрить методику диагностики состояния пульпы зуба у детей при воспалении. Помимо диагностики, диссертантом была предложена методика лечения пульпы зуба с применением непередельного шестиатомного спирта борнеола. Данные методики автор защитила патентом РФ. Изучение воспалительной реакции в пульпе зуба человека с использованием целого спектра растворимых белков и пептидов позволило автору сформировать новое теоретическое направление в области медико-биологических дисциплин. Полученные результаты, демонстрирующие неспособность пульпы зуба человека к восстановлению, течение воспаления в пульпе временных зубов человека по типу острой реакции, также обладают несомненной новизной. Полученные данные позволили автору доказать, что пульпа постоянных зубов человека наделена мощными механизмами неспецифического иммунитета, в то время как процессы, протекающие в пульпе временных зубов человека, фактически, направлены на их самоуничтожение.

И.Г. Островская впервые показала, что, помимо гликолиза, цикл Кноопа - Линена (β -окисление жирных кислот) также участвует в энергообеспечении клеток пульпы зуба в аэробных условиях, превалирование которых было установлено по активности малатдегидрогеназы. Помимо этого, автор впервые показала, что накопление жирных кислот в цитозоле вызывает активацию свободнорадикального окисления в клетках пульпы резцов крыс. Автор впервые показала, что действие субтоксических доз сахарозы и селена на организм животных подавляет активность лизосомальных ферментов в пульпе резцов крысят, а введение мелатонина и селективного ингибитора толл-подобного рецептора 4 сопровождается активацией реакции трансаминирования с участием аспартата. В эксперименте впервые был сопоставлен метаболизм пульпы верхних и нижних резцов, и выявлены существенные отличия в ответе на повреждающий фактор в зависимости от расположения зуба на челюсти. Данные экспериментальных исследований на животных позволили И.Г. Островской установить высокую реактивность и резистентность пульпы зуба к изменяющимся условиям внутренней среды организма.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций представленной работы не вызывает сомнений. Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным задачам, что позволяет их применить в теоретико-прикладном аспекте. Для подтверждения теоретических положений автором был проведен большой объем экспериментальных исследований, целью которых является установление связи между патологиями пульпы зуба и развитием зубо-челюстных аномалий. Достоверность экспериментальных данных обеспечивалась использованием современных средств и методик проведения исследований. Для

статистической обработки полученных результатов использован математический аппарат с применением современных компьютерных технологий. И.Г.

В целом, результаты полученные автором являются новыми научными знаниями на стыке отраслей прикладной биохимии, теоретической и практической стоматологии. Основные результаты диссертации отображены в 42 печатных работах, обсуждались на 18 конференциях и симпозиумах и получили одобрение ведущих специалистов в области биохимии и стоматологии.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Теоретическая значимость результатов диссертационного исследования Островской Ирины Геннадьевны заключается в том, что сформированные автором теоретико-методологические подходы и положения могут использоваться в дальнейшем при развитии теории метаболомики и протеомики пульпы зуба, теории проведения экспериментальных исследований, теории болезни пульпы и периодонта, теории медико-социальных проблем в стоматологии.

Практическая значимость представленной диссертации заключается в решении ряда проблем методического характера, способствующих созданию релевантной информации в рамках диагностики и лечения пульпы зуба. Непосредственное практическое значение имеют представленные в диссертационной работе И.Г. Островской следующие результаты:

1) методический подход к оценке состояния пульпы временных зубов человека по соотношению аспартатаминотрансферазы к аланинаминотрансферазы в десневой жидкости;

2) способ оценки эффективности лечения воспаления пульпы зуба в динамике по количеству лактоферрина, интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли- α ;

3) создание теоретических базовых площадок по изучению метаболомики пульпы в норме и патологии для их реализации в систему медицинского здравоохранения и высшего образования;

4) разработка протокола экспериментальных исследований, экстраполированных на стоматологическую практику.

Разработанные по итогам исследования методические и практические рекомендации автора используются в работе Клинического центра стоматологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, в образовательном процессе кафедр биологической химии, кариесологии и эндодонтии, детской стоматологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ.

Содержание работы, её завершенность и оформление

Диссертация написана в соответствии с требованиями ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям, и отражает завершенность проведенных исследований. Диссертация изложена четким научным языком, стиль которого подтверждает профессиональную зрелость автора. Рубрикация глав и подглав в диссертации построена в классическом стиле. Прослеживается логистика изложения материала

от общего к частному. Диссертация написана машинописным текстом и включает 238 страниц, в которую входят главы «Обзор литературы», «Методология и методы исследования» и «Результаты собственных исследований», а также «Обсуждение результатов исследования», «Заключение» и список использованной литературы. В заключительной части диссертации располагается «Приложение», которое состоит из копий патентов и методик биохимического исследования.

Во введении И.Г. Островская раскрывает актуальность темы исследования и показывает имеющиеся пробелы при изучении данного вопроса. Далее следует цель и задачи исследования, которые полностью соответствуют выводам и практическим рекомендациям.

Обзор литературы представляет собой описательную часть результатов проведенных исследований в пульпе зуба другими исследователями. Здесь представлены вопросы протеомики, частично метаболомики и даже геномики пульпы. Приводятся сведения о биологической роли и функции различных белков и пептидов, входящих в состав межклеточного матрикса пульпы зуба. Уделено внимание белкам и пептидам, являющихся основными участниками локальных воспалительных реакций в пульпе зуба. Показаны ранее полученные данные об участии ферментов в обменных процессах клеток пульпы зуба. Большая часть литературного обзора посвящена действию химических веществ, таких как сахароза, селен, мелатонин, на рост дентина и клеточные культуры пульпы зуба. Обращает на себя внимание тот факт, что автор описала участие толл-подобного рецептора 4 во врожденном иммунитете и вкратце о возможном применении его селективного ингибитора в медицинской практике. Судя по дате публикации работ, интерес научного сообщества по исследованию действия ингибитора толл-подобного рецептора 4 на органы и ткани появился сравнительно недавно и до настоящего времени полностью не изучен. Эксперименты по включению в диету животных высоких доз селена и сахарозы проводились в конце прошлого столетия, исследователи уделяли внимание твердым тканям зуба, их резистентности, кариесвосприимчивости к этим диетам, но никто не рассматривал пульпу, как возможного участника в повреждении твердых тканей зуба.

Глава материалы и методы исследования включает разделы проведения протоколов исследования на животных и образцах пульпы зуба человека. Дана подробная характеристика подготовки образцов пульпы к биохимическому исследованию. Подробно описаны реактивы и расходные материалы, применяемые в исследовании. Завершается глава описанием методов статистической обработки полученных результатов.

В главе 3 приведены полученные автором результаты, их обсуждение и интерпретация. Автор представил результаты электрофоретического разделения белков, которые на наш взгляд явились точкой опоры для дальнейших исследований на образцах пульпы зуба человека. И.Г. Островской наглядно показано, что при воспалении пульпы зуба активируются реакции протеолиза, что приводит к разрушению крупной белковой молекулы на более мелкие пептидные

фрагменты. Далее автор привела сопоставление количества белков и активности ферментов в интактной пульпе временных и постоянных зубов человека и получила достоверные результаты об их метаболическом отличии. Были также представлены результаты об изменении количества белков и пептидов и активности ферментов в пульпе временных и постоянных зубов человека на различных стадиях воспаления. В последней части этой главы приводятся результаты экспериментальных исследований на животных.

Таким образом, имеется основание считать, что научные результаты, выводы и практические рекомендации вытекают из проведенных исследований, обоснованы и достоверны. Практические рекомендации актуальны, базируются на полученных данных и могут применяться в клинической практике. Заключение содержит анализ полученных результатов, проведено аргументированное обсуждение полученных данных.

По теме диссертации опубликовано 42 публикации, отражающие основные положения работы, 1 монография и 2 патента на изобретение. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы и оформлен согласно общепринятым требованиям.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

1. Какое процентное содержание сахарозы было использовано в диетах у крыс: в таблице 1 и тексте 60%, а в выводе 9 и автореферате указано 68%. В каком объеме и что использовали в качестве растворителя для разведения селена?

2. В восьмой серии эксперимента на животных контролем служила контрлатеральная сторона? В других экспериментах показано, что пульпа реагирует даже на стороннее вмешательство в полости рта. Возможно, здесь также имела место быть реакция со стороны пульпы, и следовало дополнительно ввести интактный контроль.

3. Каковы преимущества предлагаемой методики сбора десневой жидкости с последующим определением в ней биохимических показателей? Существуют другие эффективные способы оценки состояния пульпы.

4. При исследовании моноаминоксидаз (с. 72) была изучена острая стадия воспаления пульпы, а данные по изучению хронической формы воспаления пульпы зуба не были представлены. Проводились ли эти исследования?

5. Почему при количественном исследовании белков и пептидов (с.79) было уделено внимание только хронической форме воспаления пульпы зуба?

Высказанные замечания не умаляют несомненных достоинств выполненного диссертационного труда.

Заключение

Диссертационная работа Островской Ирины Геннадьевны «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной

работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема – выявление факторов, достоверно влияющих на течение и исходы заболевания пульпы зуба для повышения эффективности оказания лечебно-диагностической помощи пациентам с воспалением пульпы зуба, имеющая важное значение для медицинской науки и практического здравоохранения.

По своей актуальности, методам и объему выполненных исследований, научному содержанию, новизне, достоверности и значимости результатов диссертационная работа Островской Ирины Геннадьевны соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

И.о. заведующего кафедрой биологической химии (биохимии)
им. Р.И. Лифшица,
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский
государственный медицинский университет»,
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук (03.01.04 – Биохимия)

 Синицкий А.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, Телефон: +7 (351) 232-73-69, Факс: +7 (351) 232-74-82, E-mail: kanc@chelsma.ru.

Подпись д.м.н., А.И. Сеницкого заверяю
Проректор по научной,
инновационной и международной работе


 Л.Ф.Телешева

« 28 » декабрь 2017 г.