

## Отзыв

официального оппонента, профессора кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора, Давыдова Вадима Вячеславовича 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 Министерства Здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки)

### **Актуальность темы**

Современные исследования органов и тканей организма на микроскопическом уровне установили наличие большого числа компонентов, отсутствие или избыток которых вызывает дисбаланс в системе гомеостаза, что приводит к замедлению или прекращению жизненно важных метаболических функций. К этим компонентам относят белки и пептиды, которые имеют решающее значение для выполнения клеткой специфических функций, определяющих сохранение жизнеспособности и целостности всего организма. Поэтому количественное определение белков и пептидов, которые иногда действуют друг с другом синергически, необходимо не только для дифференцировки признаков патологии, но и для выбора фармакологических средств, направленных на понижение напряжения в системе гомеостаза ткани.

Сведения о том, что воспалительные процессы в органах и тканях характеризуются миграцией иммунокомпетентных клеток, усилением трофики и поступлением кислорода к участку повреждения, позволили разработать и апробировать большое количество эффективных противовоспалительных препаратов, оказывающих селективное действие на продукты воспалительной реакции. Несмотря на это, многие воспалительные процессы становятся неконтролируемыми или сверх экспрессируемыми, что, в конечном итоге, приводит к полному разрушению клеток и тканей. Поэтому рекрутинг белково-пептидных молекул, которые участвуют в экспрессии функциональных рецепторов, позволяет установить их биологическую роль не только в развитии боли и регенерации, но и использовать для лечения патологии.

Построение данной инновационной модели для исследования представляет собой ключевой элемент стратегии существенного расширения арсенала средств для применения полученных сведений о роли белков и пептидов в пульпе зуба. На сегодняшний день отсутствуют сведения об эффективных методах диагностики и лечения патологий пульпы зуба, что

определяет своевременность и актуальность темы диссертационной работы Островской И.Г.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Диссертационное исследование Островской И.Г. имеет большую научную новизну и теоретическую значимость. На основании исследования количественных и качественных характеристик белков и пептидов в пульпе зуба диссертантом была разработана теоретическая основа, позволившая описать весь спектр патологических явлений, встречающихся в пульпе зуба. Предложены новые аналитические решения по подготовке проб образцов пульпы зуба и выполнения методик для их исследования.

И.Г.Островской были расширены современные представления о патогенетической картине развития воспалительной реакции в пульпе временных и постоянных зубов человека на основании исследований в ней содержания белков и пептидов с различными биологическими функциями. На естественной модели воспалительных процессов в пульпе временных и постоянных зубов человека установлена очевидность активации, а затем затухания клеточных ответов, что может быть основанием для разработки новых стратегий диагностики и лечения.

В исследовании впервые установлена корреляционная зависимость увеличения уровня белков-маркеров апоптоза на фоне понижения электровозбудимости клеток в пульпе временных и постоянных зубов человека. Установлен коэффициент соотношения активности аланиновой и аспарагиновой трансаминаз в десневой жидкости временных зубов человека с воспалением пульпы, а также коэффициент резорбции дентина в пульпе временных и постоянных зубов человека, который выше в пульпе постоянных зубов человека при воспалении за счет увеличения уровня остеокластактивирующего фактора. Разработанные автором коэффициенты могут принести пользу практическому здравоохранению при проведении дифференциальной диагностики состояния пульпы зуба.

Для проверки рабочих гипотез были разработаны экспериментальные модели для прогнозирования развития возможных патологий пульпы зуба, которые могут быть использованы для оценки эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Впервые выявлена реакция пульпы резцов крыс на травму прилежащих тканей полости рта, а также на введение как с пищей, так и парантерально экзогенных химических соединений. Автор показала отличия в реакции пульпы верхних и нижних зубов на смоделированные факторы. И.Г. Островской была изучена роль окисления жирных кислот, мелатонина и толл-подобного рецептора 4 на метаболические процессы в пульпе резцов крыс.

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

Подробный анализ отечественной (104 источников) и зарубежной (367 источников) литературы позволили диссертанту получить объективное представление о состоянии изучаемой проблемы, определить цель и задачи исследования.

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием биохимических методик, которые обеспечили возможность получения результатов, адекватных поставленной цели.

Результаты диссертационного исследования основаны на достаточном количестве материала для получения достоверных результатов и выводов. Для достижения цели и решения поставленных задач автор провела исследования на 980 образцах пульпы резцов крыс и 539 образцах пульпы зуба человека в разные возрастные периоды развития организма. Были изучены образцы элюатов десневой жидкости в 125 зубах у 75 детей на трех сроках исследования. Использовано 34 биохимических показателя в образцах пульпы зубов человека и резцов крыс, элюатов десневой жидкости. При сборе, обработке и анализе материала были применены современные методы сбора информации и статистические методы обработки. На основании результатов поэтапного исследования с применением современных методов, автором были расширены теоретические представления патогенеза пульпы зуба, разработаны пути совершенствования диагностики и лечения воспаления пульпы.

Степень обоснованности научных положений, а также достоверность выводов в полной мере подтверждается данными статистической обработки и сомнения не вызывает.

Выводы полностью соответствуют сформулированным задачам. Практические рекомендации опираются на данные диссертационного исследования и являются тождественными.

## **Научная и практическая значимость полученных результатов**

Высокую научную значимость имеют полученные автором сведения об обмене веществ в пульпе зуба при участии белков и пептидов. Для получения достоверных сведений автор использовала расширенную линейку белково-пептидных показателей, которая позволила обсудить изменения, происходящие в комплексе пульпа-периодонт при патологии. Примененный И.Г. Островской метод электрофоретического разделения белков в экстрактах пульпы временных и постоянных зубов человека показал степень гидролиза белковых молекул при развитии воспаления. Диссертантом была получена количественная характеристика целого ряда белков и ферментов в пульпе зуба, различающихся по своим биологическим функциям.

Для достоверной дифференциальной диагностики состояния пульпы зуба у детей И.Г. Островской был предложен неинвазивный метод с использованием показателей десневой жидкости. Его использование в

клинической практике позволит снизить распространенность риска одонтогенных осложнений и предложить адекватное лечение. Несомненный научный интерес вызывает исследование противовоспалительных свойств борнеола на пульпу зуба. Этот эффект не изучался в предшествующих работах, а теоретические сведения получены из фундаментальных исследований с лабораторными животными.

Полученные результаты обосновывают необходимость для их внедрения в сферу высшего медицинского образования и учреждений здравоохранения для создания и внедрения протокола по оказанию квалифицированной помощи данной категории пациентов.

### **Содержание работы, её завершенность и оформление**

Структура диссертационной работы построена традиционно. Диссертация имеет: введение, обзор литературы, описание методологии и методов исследования, представление результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список цитируемой литературы, включающий 475 работ, приложения.

Диссертация изложена на 238 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 таблицами, 32 рисунками, 2 фотографиями. Основные положения и выводы работы отражены в 42 публикациях, включая 17 статей в научных рецензируемых журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных ВАК.

Обзор литературы состоит из четырех разделов. Первый раздел посвящен морфологии пульпы зуба, что очень важно для понимания анатомии, локализации и строения изучаемого объекта. В следующем разделе приводятся результаты исследовательских групп и ряда авторов по изучению протеома пульпы зуба. Надо отметить, что пульпа зуба имеет богатый набор белков, относящихся к разным филогенетическим группам. Идентификация белковых структур позволяет получить полное представление о биологической роли пульпы зуба. В третьем разделе приводится описание данных о механизме, мишенях, мессенджерах воспалительной реакции, показано участие простагландина E<sub>2</sub>, биологически активных пептидов, протеолитических ферментов в развитии воспалительного процесса в пульпе зуба. Автором показано, что сходность и различия воспалительного процесса в пульпе зуба по отношению к другим органам и тканям организма определяет подходы к проведению эффективных лечебных мероприятий. В последнем разделе диссертант уделила внимание известным по настоящее время исследованиям, связанных с изучением реакций различных тканей, в том числе и пульпы зуба, на экзогенные химические вещества. Таким образом, анализ литературных данных показал, что имеются разрозненные и независимые друг от друга исследования по изучению биологической роли пульпы зуба, а также отсутствуют социальные, экономические и клинические предложения по эффективности

мероприятий оказываемой медицинской помощи пациентам с патологией пульпы зуба.

На основании всестороннего анализа данных отечественной и зарубежной литературы автор четко определил цель диссертационного исследования, связанную с выяснением роли белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов и 7 конкретных задач для ее реализации.

Во второй главе диссертации представлены сведения о методологии и методах, программе исследования, подробное описание которых свидетельствует о большом объеме проведенных исследований и методологической грамотности исследователя.

Результаты собственных исследований третьей главы изложены в 5 подглавах диссертации. В этой главе автор подробно дала описательную характеристику полученных результатов с использованием элементов статистического анализа. Сначала был представлен спектральный анализ растворимых белков в пульпе временных и постоянных зубов в норме и при воспалении, а затем была дана сравнительная характеристика активности ферментов, количества белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов. Автор показала, что воспалительный процесс в пульпе существенно меняет качественный состав белковых фракций, а сходства и различия количественного состава белков в пульпе временных и постоянных зубов подтверждают особенности возрастных изменений. Далее диссертант получила данные, что в пульпе постоянных зубов человека хронический воспалительный процесс сопровождается угнетением активности ферментов окислительно-восстановительного цикла, трансаминирования, антиоксидантной защиты и активацией гликозидаз. Начальная стадия гиперемии пульпы и острая воспалительная реакция в пульпе зуба человека, напротив, характеризуются повышенной активностью всех представленных в настоящей работе ферментов. Автор установила более благоприятный рельеф достигнутых значений при гиперемии пульпы, где изученные показатели указали на обратимые явления. Количество белков неспецифического иммунитета, резорбции минерализованных тканей, апоптоза, факторов роста в пульпе постоянных и временных зубов человека было определено и представлено в этой главе. Полученные результаты о патогенетических изменениях и регенеративных возможностях пульпы зубачеловека при воспалении позволили И.Г. Островской разработать и внедрить методы, которые могут применяться в качестве дополнительного лабораторного контроля эффективности диагностики и терапии пульпы зуба.

В последних двух подглавах главы результатов собственных исследований отражены результаты проведенных модельных экспериментов с пульпой резцов животных. Диссертант установила особенности субстратного обеспечения компенсаторно-приспособительных метаболических реакций в пульпе верхних и нижних резцов животных при различных вариантах воздействия на организм животного. Особую

актуальность приобрел анализ метаболического ответа на стоматологические манипуляции в полости рта, введение различных химических препаратов и диет, а также на иммобилизацию животных различной продолжительности. Таким образом, данные исследования, направленные на изучение метаболических реакций в пульпе зуба, позволили приблизить понимание развития патологических процессов при воздействии на организм различных раздражителей и выявить факторы риска с целью предупреждения перехода компенсаторно-приспособительных реакций в необратимые.

В главе обсуждение результатов суммированы выявленные особенности и проведено их сравнение с имеющимися данными научной литературы. По результатам исследования сделаны логично-обоснованные выводы, соответствующие поставленным задачам и даны важные в научном и прикладном аспектах практические рекомендации.

По результатам исследования сделано 11 выводов. Выводы, изложенные в диссертации, основаны на достоверном фактическом материале, подвергнутом адекватной статистической обработке. Они логически вытекают из представленных в работе результатов.

#### **Подтверждение опубликования результатов диссертации в научных изданиях**

По теме диссертации опубликовано 42 публикации, которые отражают основные положения работы, издана 1 монография и получено 2 патента на изобретение.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации И.Г. Островской на тему «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов» в полной мере отражает результаты исследования и соответствует основным положениям диссертационной работы.

#### **Замечания по диссертационной работе**

Однако обращает на себя внимание присутствие в работе отдельных некорректных выражений типа: «биологическая система обороны... (с. 129)», «биологический метод лечения пульпита (с. 138)», «гормональные процессы активно курируют растущий организм... (с. 148)» и др.

Требует пояснения вопрос о выборе для исследования соответствующего перечня ферментов. На основании анализа данных о состоянии ферментативной активности не стоит делать заключения об изменении состояния обменных процессов (интенсивности гликолиза, состояния челночных механизмов и др). Данные ферменты катализируют обратимые реакции и поэтому состояние метаболических потоков, связанных

с ними, больше зависит от соотношения уровня их субстратов, а также продуктов их превращения в ткани.

Вряд ли можно согласиться с диссертантом, что в работе проводилось исследование обмена белков и пептидов (с. 147). Для этой цели требуется изучение процессов биосинтеза и распада соответствующих белков и пептидов.

Совершенно не оправдана попытка оценки состояния антиоксидантной системы тканей зуба только по активности СОД. Известно, что этот фермент катализирует обратимую реакцию, которая при определенных условиях может идти в направлении генерации активной формы кислорода – перекиси водорода. Для корректного анализа необходимо параллельная оценка состояния активности других ферментов первой линии антиоксидантной защиты, к числу которых относится каталаза. Однако активность этого фермента не изучалась.

Вместе с тем, выявленные замечания не имеют принципиального характера и не снижают научно-практической ценности диссертационного исследования.

В процессе рецензирования к диссертанту возник ряд вопросов, требующих пояснения:

1. Что подразумевалось под контрольными образцами десневой жидкости при исследовании эффективности лечебных мероприятий в пульпе временных зубов у детей? В тексте не указана валидность и кто являлся донором.

2. Почему в анализ работы для большей достоверности диагностики пульпы временного зуба не проведена корреляция показателей в десневой жидкости и экстрактах пульпы?

3. В работе представлены результаты исследования ТБК-реактивных веществ. Но они не нашли серьезного обсуждения. Почему? Вы не провели анализ изменения величины этого показателя с изменениями активности СОД? Вместе с тем это представляет большой интерес с точки зрения выяснения роли свободнорадикальных процессов в развитии исследуемой Вами патологии.

4. Что, по Вашему мнению, является причиной возникновения различий в изменении роли белков и пептидов в формировании резистентности тканей постоянных и временных зубов к действию неблагоприятных факторов?

Диссертация И.Г. Островской представляет собой высокопрофессиональное научное исследование, которое имеет большое научно-практическое значение. Поэтому высказанные замечания в большей мере указывают на перспективы его продолжения.

### ***Заключение***

Диссертационная работа Островской Ирины Геннадьевны на тему: «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов» выполнена на

высоком методическом и научном уровне с использованием целого комплекса современных методов исследований, на большом фактическом материале, подвергнутом адекватной статистической обработке, что позволило диссертанту сделать корректные и обоснованные выводы.

Работа является самостоятельным научным исследованием, на основании которого сформулированы и обоснованы теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, вносящее крупный вклад в медицинскую науку и предлагающее подход к решению проблемы диагностики с использованием белково-пептидных показателей в лечении пульпы зуба.

По своей актуальности, используемым методам и объему выполненных исследований, научному содержанию, новизне, достоверности и значимости результатов диссертационная работа Островской Ирины Геннадьевны соответствует всем требованиям п.п. 9, 10, 11, 13 и 14 «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), предъявляемых к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Минздрава России, доктор мед. наук (03.01.04 – биохимия), профессор

ДАВЫДОВ В.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1  
Телефон: +7 (495) 434-14-22, Факс: +7 (495) 434-14-22  
E-mail:

