

ВІДГУК
на дисертаційну роботу І.А.Воловик "Корекція гіпоксії в комплексному лікуванні захворювань пародонта", подану на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія до спеціалізованої вченої ради Д 26.613.09 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика

Актуальність теми. Мультифакторність патогенетичних ланок генералізованих запальних, запально-дистрофічних хвороб пародонта зумовлює складність та низьку ефективність наявних методів їх лікування, профілактики. Численні наукові дослідження, присвячені вивченню ролі гіпоксії в патогенезі багатьох патологічних станів в організмі людини, підтверджують провідне її значення у розвитку хронічного генералізованого катарального гінгівіту, пародонтиту. Оскільки гіпоксія пародонта пов'язана, насамперед, із морфо-функціональними особливостями судин мікроциркуляторного русла, характером гемодинаміки в них, то підвищення тону судин, їх спазм призводять до зниження числа функціонуючих капілярів в яснах, збільшення часу дифузії кисню з судин у тканини. В той же час прояв внутрішньосудинних змін можливий у прискоренні або уповільненні кровотоку, у вигляді реологічних змін крові, просвіту судин, тиску в різних відділах мікроциркуляторної одиниці, адгезії, утворенні мікротромбів і мікроемболів. По суті гіпоксія є своєрідним ключем до розшифрування тонких молекулярних механізмів адаптаційних реакцій клітин.

Важливо також, що гіпоксія являється одним із потужних індукторів експресії великої групи генів, у тому числі тих, які контролюють гліколіз, ангіогенез і процеси проліферації, що сприяє виживанню клітин за умов зниженого рівня кисню.

Подальше вивчення гіпоксичних порушень, судинних змін та енергетичних процесів при запальних та запально-дистрофічних хворобах пародонта має не тільки високу актуальність, наукову цінність для розуміння механізмів розвитку зазначених хвороб пародонта, але й практичне значення

для діагностики, патогенетичної терапії, контролю ефективності лікування, медичного прогнозування. Тому заслуговує на особливу увагу у даному аспекті дисертаційне дослідження, метою якого стало підвищення ефективності комплексного лікування хворих молодого віку із захворюваннями пародонта шляхом клініко-експериментального обґрунтування та розробки методу корекції гіпоксії у тканинах пародонта на основі використання озонотерапії та фармакологічної композиції.

Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця: "Інноваційні підходи до діагностики та лікування твердих тканин зубів, захворювань пародонта та слизової оболонки порожнини рота" (номер державної реєстрації 0114U001355).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, базуються на отриманих результатах експериментально-клінічних досліджень. Вивчені та проаналізовані особливості клінічних проявів хронічного катарального гінгівіту (ХКГ) та хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП) початкового і I ступеня у хворих молодого віку у взаємозв'язку із їх маркерами гіпоксичних, циркуляторних та метаболічно-енергетичних змін. Розроблена нова фармакологічна композиція для корекції гіпоксії в комплексному лікуванні зазначених хворих, перевірені її цитотоксичні та антигіпоксичні властивості на культурі клітин епітеліального походження, ефективність в умовах експериментальної гіпоксії на лабораторних тваринах. Обґрунтована та оцінена клініко-лабораторна ефективність патогенетичного комплексного лікування хворих на хронічний катаральний гінгівіт та хронічний генералізований пародонтит із застосуванням озонотерапії та нової фармакологічної композиції у найближчі та віддалені терміни спостереження.

Основні наукові положення, розроблені автором, обґрунтовані достатнім обсягом фактичного матеріалу. Під постійним наглядом дисертантки протягом двох років перебувало 109 пацієнтів 18-30 років, у яких були констатовані хронічний ГП I (31 особа) та початкового (40 осіб) ступеня, хронічний катаральний гінгівіт (31 хворий) та 7 осіб мали клінічно не змінений пародонт. Експериментальний фрагмент досліджень виконаний на 49 білих щурах лінії Вістар.

Дисертантка використала сучасні інформативні методи клінічних, рентгенологічних, функціональних, молекулярно-генетичних, біохімічних та цитологічних досліджень, що дозволяють отримати об'єктивні дані щодо стоматологічного статусу, функціонального стану судин пародонта обстежених осіб, маркерів перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи та метаболічного стану ротової рідини, маркерів гіпоксії, дисфункції ендотелію судин та метаболічно-енергетичних процесів в пародонті, а також досліджена в експерименті цитотоксичність запропонованої до використання фармакологічної композиції. Вибір зазначених методів клініко-експериментальних досліджень є логічним, «патогенетично» виправданим для обґрунтування та розробки методу корекції гіпоксії у тканинах пародонта.

Проведена статистична обробка фактичного матеріалу з використанням t-критерій Ст'юдента з поправкою Бонфероні, дисперсійного аналізу (ANOVA, за критерієм Фрідмана), U-критерія Манна-Уїтні, Крускала-Уоліса, Вілкоксона, Фішера, χ^2 МакНемара та коефіцієнта кореляції Спірмена свідчить про достовірність отриманих результатів, а їх обговорення, висновки та практичні рекомендації дозволяють стверджувати про достатній рівень обґрунтованості сформульованих автором наукових положень, які доповідались на 5 науково-практичних конференціях, конгресах та з'їздах різного рівня.

За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з них 10 статей у фахових ліцензійних виданнях, 1 – у закордонному журналі,

отримано 2 патенти України на корисну модель, 2 Свідоцтва про реєстрацію авторського права. Опубліковані праці повністю охоплюють всі розділи дисертації.

Результати досліджень впроваджені в клінічну практику СМЦ НМУ імені О.О.Богомольця та стоматологічних закладів м. Дніпра, м. Краматорська, м. Кривого Рогу, м. Кропивницького, м. Одеси, м. Полтави, м. Харкова та включені у навчальний процес кафедри терапевтичної стоматології НМУ імені О.О.Богомольця (м. Київ), ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" (м. Полтава), Харківського національного медичного університету, кафедри стоматології №1 Донецького національного медичного університету.

Наукова цінність та практична значимість роботи.

Дисертаційне дослідження має наукову новизну. Вперше представлений деталізований опис особливостей та взаємозв'язків маркерів гіпоксії, дисфункції ендотелію судин, прооксидантно-антиоксидантної системи та метаболічно-енергетичних процесів в тканинах пародонта і ротовій рідині хворих на хронічний катаральний гінгівіт та генералізований пародонтит; запропонований індекс компенсації гіпоксії. Вперше експериментально *in vitro* на культурі клітин епітеліального походження обґрунтовано та розроблено нову фармакологічну композицію (ФК), до складу якої введено Цитофлавін, Хлоргексидин та Метронідазол; визначено їх оптимальні концентрації та співвідношення, доведено відсутність цитотоксичної дії при сумісному використанні зазначених препаратів. В той же час, за умов експериментальної гіпоксії констатовані антигіпоксичні, цитопротекторні, антиоксидантні, антибактеріальні та метаболічні властивості композиції "Цитогексизол". Вперше в експерименті досліджена загальна токсичність ФК, доведено відсутність негативної дії компонентів ФК на організм та тканини пародонта щурів.

Отримані результати досліджень особливостей прояву гіпоксії, судинних та метаболічно-енергетичних порушень в тканинах пародонта при

різних формах уражень пародонта довели доцільність застосування озонотерапії та фармакологічних препаратів, дія яких патогенетично спрямована на ліквідацію явищ гіпоксії.

Пріоритетними у дисертаційній роботі є фармакологічна композиція "Цитогексизол" та патогенетично обґрунтований спосіб комплексного лікування хворих на ГП хронічного перебігу та хронічний катаральний гінгівіт без соматичної патології із схемою корекції гіпоксії, яка передбачає проведення процедури професійної гігієни порожнини рота та курсу озонотерапії у хворих на ХКГ, а також курсу озонотерапії та нової ФК у пацієнтів із ГП. Результати клініко-лабораторних спостережень засвідчили високий терапевтичний ефект запропонованого способу лікування у найближчі та віддалені терміни курації зазначених хворих. Дисертанткою розроблені диференційовані підходи щодо заходів та строків проведення підтримуючої терапії у хворих залежно від клінічної форми захворювань пародонта (при ХКГ - один раз на рік, ГП – один раз у півроку), що подовжує терміни ремісії та стабілізації при ГП, попереджує рецидиви виникнення ХКГ.

Зазначене дозволяє стверджувати про наукову цінність та практичну значимість дисертаційного дослідження.

Оцінка змісту дисертації, зауваження щодо змісту та оформлення роботи.

Дисертація І. А. Воловик побудована за загально прийнятою схемою, викладена на 222 сторінках друкованого тексту (основний обсяг роботи - 125 сторінок) та складається з переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел. Робота ілюстрована 45 рисунками та містить 62 таблиці.

У «Вступі» дисертації повно висвітлені актуальність теми дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, мета, завдання, наукова новизна та

практична значимість отриманих результатів, особистий внесок автора у виконання даного дослідження, впровадження та апробація дисертаційних матеріалів, повнота їх викладення в опублікованих працях.

Найважливіше зауваження до об'єкту дослідження, який повинен бути сформульований як явище, яке підлягає вивченню. У даній роботі – це розвиток гіпоксії у тканинах пародонта пацієнтів із запальними та запально-дистрофічними змінами пародонта.

Розділ 1 «Гіпоксія в патогенезі уражень тканин пародонта (огляд літератури)» у двох підрозділах на 20 сторінках відображає сучасний погляд на механізми гіпоксичної модуляції у розвитку захворювань пародонта, способи корекції гіпоксії в комплексному лікуванні захворювань пародонта.

Логічним став висновок дисертантки, що адаптація організму до умов гіпоксії значною мірою ініціюється унікальним сенсорним механізмом контролю рівня кисню. Він міститься у кожній клітині тіла і змінює характер перебігу багатьох біохімічних процесів, регулюючи експресію великої кількості генів. Це свідчить про ключову роль транскрипційного комплексу у реалізації адаптаційних процесів до умов дефіциту кисню на молекулярному рівні широкого кола фізіологічних і патофізіологічних процесів. У той же час наукові літературні джерела не мають конкретних даних щодо діагностичної ролі кисень-залежних факторів, які активуються за умов гіпоксії в тканинах пародонта та запускають в подальшому транскрипційну коактивацію в клітинах. На думку дисертантки залишаються відкритими також питання стосовно ефективності призначення озонотерапії та антигіпоксантив для лікування хворих з різними клінічними формами захворювань пародонта. Адекватна корекція гіпоксії повинна займати провідне місце в комплексній терапії та профілактиці захворювань пародонта. Інформація розділу викладена аргументовано і доступно із вагомими висновками.

Зауваження до розділу: окремі цитування авторів у тексті розділу не

мають відповідного посилання у списку використаних літературних джерел (Л. В. Пастушенков, Е. Е. Лесиовская, 1991; с. 40; С. В. Оковитий, 2005 р.; с. 41 та ін.).

Характеристика груп хворих, застосованих методів клініко-лабораторного, експериментального спостереження, схема комплексного лікування обстежених пацієнтів, опис статистичної обробки отриманих результатів представлена у восьми підрозділах другого розділу.

У третьому розділі дисертації на 13 сторінках описані результати досліджень фармакологічних препаратів, які застосовуються у роботі, на цитотоксичність у звичайних умовах та при моделюванні гіпоксії. Доведена експериментально виразна цитотоксичність на епітеліальні клітини Хлоргексидину та Метронідазолу в високих концентраціях. В той же час відмічена цитопротекторна дія нетоксичного антигіпоксичного препарату Цитофлавін. Підібрана оптимальна рецептура ФК, що не має цитотоксичної дії, а саме: Метронідазол (2,5 мг/мл): Хлоргексидин (0,025% розчин): Цитофлавін®, у співвідношенні як 1:1:8. Важливим фактом є експериментальне свідчення антигіпоксичних, цитопротекторних та відновлювальних властивостей ФК за умов створення кобальт-індукованої гіпоксії на епітеліальні клітини, що обґрунтовує її застосування у клінічних дослідженнях.

Четвертий розділ дисертації містить результати експериментальних досліджень при моделюванні гіпоксії. За умов залізодефіцитної анемії констатовані ряд суттєвих патологічних змін (запалення, дисбіоз, зниження антиоксидантної активності, метаболічний зсув) як у тканинах пародонта щурів, так і слизовій оболонці шлунку на тлі достовірної негативної динаміки гематологічних показників. Нормалізуючий вплив ФК на стан пародонта, слизову оболонку шлунку може бути підставою для широкого її застосування з метою корекції гіпоксії в організмі людини.

Багато при описі показників перекисного окиснення ліпідів дотримуватись єдиної термінології, коли мова йде про ТБК-активні

продукти у розділі 3, а в четвертому розділі вже надається характеристика рівня МДА.

П'ятий розділ присвячений опису особливостей прояву гіпоксичних, судинних та метаболічно-енергетичних змін в осіб із захворюваннями пародонта. У трьох підрозділах наведені клінічні, лабораторні та молекулярно-генетичні показники хворих на хронічний катаральний гінгівіт, генералізований пародонтит початкового та першого ступеня, хронічного перебігу. Встановлено, що при прогресуванні тяжкості патологічного процесу в пародонті, про що свідчать клініко-лабораторні показники обстежених хворих, метаболічні зміни супроводжуються значним переважанням доли анаеробного шляху гліколізу, експресія HIF1 α підвищується та значно переважає над VEGFA, рівень нормалізованої експресії ферменту анаеробного гліколізу LDHA та частота підвищеної експресії ендотеліальної NO-синтази NOS3 різко зростають. Оцінка стану гіпоксії тканин пародонта за допомогою запропонованого індексу компенсації гіпоксії HSI показала його інформативність із збільшенням тяжкості хвороб пародонта. При цьому, розраховані достовірні середній та високий рівні коефіцієнту кореляції Спірмена між відсотковим вмістом гіпоксія-індуцибельного фактору в тканинах пародонта та клінічними індексами КПа+пр.поверхонь; між HIF1 α в тканинах пародонта та API; між HIF1 α в тканинах пародонта та біохімічним маркером оксидативного стресу малоновим діальдегідом; між лактатом в ротовій рідині та лактатдегідрогеназою в тканинах пародонта; між рівнем нормалізованої експресії HIF1 α та VEGF.

Оцінка ефективності комплексного лікування хворих на ХКГ та ГП початкового та I ступеня з використанням методу корекції гіпоксії у найближчі та віддалені терміни спостережень наведена у шостому та сьомому розділах дисертації. Порівняльна оцінка клінічної, рентгенологічної, функціональної, лабораторної ефективності лікування

засвідчила вагому перевагу запропонованого лікування осіб без соматичної патології із ХКГ та ГП початкового та I ступеня у всіх термінах динамічного спостереження. Так, клінічна ефективність лікування хворих за запропонованою схемою (66 хворих) становить у найближчі та віддалені терміни 94% та 92%, тоді як за загальноприйнятою методикою (36 хворих) – 69% та 68%, відповідно. Отримані результати дають підставу вважати розроблений спосіб корекції гіпоксії більш ефективним, порівняно до загальноприйнятого, та рекомендувати його до застосування в комплексному лікуванні хворих із зазначеною патологією пародонта.

Зауваження до тексту розділів – застосування некоректних словосполучень («слизова оболонка ясен», «суб'єктивні скарги»). Бажана конкретизація у назвах розділів 5-7, темі дисертації щодо словосполучення «захворювання пародонта», оскільки в дисертаційних дослідженнях мова йде лише про хронічний катаральний гінгівіт та генералізований пародонтит хронічного перебігу початкового та першого ступеня.

На 14 сторінках розділу «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» наведене деталізоване узагальнення виконаних експериментально-клінічних досліджень. Представлений матеріал систематизований, проаналізований у співставленні з відомими науковими розробками, що є свідченням компетентності дисертантки в інтерпритації отриманих результатів дисертаційного дослідження.

В якості зауваження слід зазначити зайвий деталізований опис об'єктів та методів дослідження, бажано конкретизувати підписи до рисунків 1-3.

Висновки, практичні рекомендації базуються на результатах проведених клінічних, рентгенологічних, функціональних, молекулярно-генетичних, біохімічних та цитологічних спостережень, переконливі, аргументовані.

Автореферат повністю відображає основні положення дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота вносить вагомий вклад у теоретичну та практичну стоматологію, має важливе значення для патологічної фізіології, клінічної фармакології. Принципових зауважень щодо оформлення і викладення матеріалу в дисертації не має.

В процесі ознайомлення з дисертаційною роботою виникли наступні запитання:

1. Чи були ускладнення на етапах лікування хворих запропонованим способом, якщо так, то які?
2. Чому в якості моделі експериментальної гіпоксії перевага надана залізодефіцитній анемії?
3. Чому у дисертаційній роботі клінічний діагноз хронічного катарального гінгівіту не містить посилання на локалізацію патологічного процесу?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота І.А. Воловик "Корекція гіпоксії в комплексному лікуванні захворювань пародонта" є завершеним науковим дослідженням, що виконано за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія, в якому дисертантка запропонувала вирішення актуальної науково-практичної задачі сучасної стоматології – підвищення ефективності комплексного лікування хворих молодого віку із хронічним катаральним гінгівітом та генералізованим пародонтитом початкового та першого ступеня тяжкості шляхом клініко-експериментального обґрунтування та розробки методу корекції гіпоксії у тканинах пародонта на основі використання озонотерапії та фармакологічної композиції.

За актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною та практичною значимістю, адекватністю застосованих методів дослідження, достовірністю та вагомістю сформульованих наукових положень, висновків, практичних

рекомендацій дисертація І.А. Воловик відповідає вимогам п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів" Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 року) щодо кандидатських дисертацій, а дисертантка І.А. Воловик заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 - стоматологія.

Офіційний опонент –

завідувачка кафедри

терапевтичної стоматології ВДНЗ України

“Українська медична стоматологічна академія”

доктор медичних наук, професор

ПЕТРУШАНКО Т.О.

