

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу Єлінської Аліни Миколаївни «Роль редоксчутливих факторів транскрипції у розвитку дизрегуляторної патології пародонта та шляхи її експериментальної терапії», яка подана у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 Харківського національного медичного університету на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія (22 «Охорона здоров'я»).

Актуальність теми дисертаційної роботи. Відомо, що патологія пародонта призводить до ускладнень, в тому числі у осіб працездатного віку (20-44 років), на яких припадає 65-95% випадків, тобто є однією з найпоширеніших і соціально значущою.

Поряд з роллю місцевих чинників у розвиток захворювань пародонту вносять вклад загальні порушення в організмі. Відомий зв'язок запально-дистрофічних захворювань пародонта з серцево-судинними захворюваннями, цукровим діабетом, ожирінням, метаболічним синдромом та ін. Наслідком системних захворювань є розлади регіонарної гемодинаміки, мікроциркуляторні порушення в щелепно-лицевій області, які призводять до збільшення глибини пародонтальних кишень, резорбції альвеолярної кістки, випадання зубів.

Центральні дизрегуляторні впливи на орган можуть призводити до дефіциту механізмів контролю чи надмірної стимуляції через розлади активації транскрипційних чинників.

Механізми виникнення і підтримки дизрегуляторних процесів пов'язані з перманентною активацією деяких факторів транскрипції.

Засобами патогенетичної корекції цих механізмів можуть бути інгібітори транскрипційних чинників, які викликають дизрегуляцію запальних, оксидативних і метаболічних процесів на молекулярному рівні. Пригнічення цих чинників виключає можливість пакетної експресії низки

генів, які кодують прооксидантні та прозапальні білки. Іншим підходом є індукція сигнальних систем, що виявляють функціональний антагонізм до наведених вище транскрипційних чинників, зокрема шляху Keap1 / Nrf2, який активує експресію генів за рахунок взаємодії транскрипційного фактора Nrf2 з цис-регуляторним енансером, відомим як антиоксидант-респонсивний елемент (ARE).

Дані літератури щодо ролі редоксчутливих транскрипційних факторів в механізмах запалення, дезорганізації сполучної тканини пародонта поодинокі та суперечливі.

Тому цілком обґрунтовано виглядає ідея автора відносно з'ясування ролі редоксчутливих елементів у патогенезі дизрегуляторної патології. Припущення, що ці дослідження сприятимуть дестабілізації патологічної системи, ліквідації базисних механізмів розвитку патології пародонта, надає роботі особливої актуальності.

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

Дисертація виконана як самостійний фрагмент планової наукової роботи Української медичної стоматологічної академії МОЗ України «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941). Здобувачка була відповідальним виконавцем теми.

Наукова новизна одержаних наукових результатів та їх практичне значення. При порівняльному аналізі локального ушкодження пародонта, ступеню його ушкодження при ліпополісахарид(ЛПС)-індукованій запальній відповіді та локального ушкодження пародонта на тлі ЛПС-індукованої запальної реакції встановлено, що останнє супроводжується найбільш вираженими як загальними, так місцевими метаболічними розладами.

Доведено, що ушкодження м'яких тканин пародонта на тлі ЛПС-

індукованого запалення супроводжується деструкцією екстрацелюлярного матриксу під впливом матриксних металлопротеїназ 1,8, деполімеризацією колагена, протеогліканів, сіалоглікопротеїдів. Деструкція тканин пародонта за цих умов перевищує таку за умов впливу на ясна місцевих пародонтогенних агентів.

Встановлено, що активація транскрипційних чинників (NF- κ B, AP-1, STAT-3) призводить до порушення окисного метаболізму та дезорганізації сполучної тканини пародонта. Застосування інгібіторів активації цих чинників (амонію піролідиндитіокарбамату, водорозчинної форми кверцетину, SR 11302, іматинібу мезилату) знижує швидкість генерації супероксид-аніону електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій та мікросом, зменшує NO-синтазну активність, концентрацію пероксинітрида, утворення вторинних продуктів ПОЛ, збільшує антиоксидантний потенціал тканин пародонта (при застосуванні амонію піролідиндитіокарбамату, водорозчинної форми кверцетину та SR 11302). На гістологічному рівні це проявляється обмеженням деполімеризації колагена, протеогліканів та сіалопротеїнів у м'яких та кістковій тканинах пародонта. Зменшується резорбція альвеолярного відростка.

Автор переконливо довів, що індукція системи Keap-1/Nrf2/ARE епігалокатехін-3-галатом при моделюванні запалення обмежує утворення активних форм кисню/активних форм нітрогену у м'яких тканинах пародонта. Паралельні гістологічні дослідження виявили позитивну динаміку: у тканинах пародонта зменшувалися колагеноліз, деполімеризація протеогліканів і сіалоглікопротеїдів. В цілому морфологічна картина та ознаки запалення, метаболічні показники покращувалися.

Крім того, цінним науковим фактом являється доведена ефективність корекції структурно-функціональних порушень пародонта при одночасному застосуванні декількох засобів, що пригнічують транскрипційні чинники NF- κ B і AP-1 (кверцетин+SR 11302), або при

комбінації інгібітора NF-кВ з індуктором функціонально антагоністичного чинника, Nrf2 (кверцетин з епігалокатехін-3-галатом).

Використання кверцетину на тлі ЛПС-індукованого запалення покращує гістологічні прояви запально-деструктивних процесів у пародонті, а саме перешкоджає утворенню гнійного ексудату, зменшує ступінь резорбції цементу і кісткової тканини альвеолярного відростка, прискорює утворення і дозрівання грануляційної тканини в стінках пародонтальної кишені, сприяє заміщенню кісткових дефектів сполучною тканиною, сприяє регенерації цементу.

Одержані результати обґрунтовують доцільність клінічної оцінки ефективності застосування модуляторів транскрипційних чинників NF-кВ, AP-1, STAT-3, системи Keap-1/Nrf2/ARE в якості можливих засобів профілактики та лікування захворювань пародонта.

Доведена в експерименті ефективність комбінації водорозчинної форми кверцетину і інгібіторів активації транскрипційних чинників AP-1 і індукторів системи Keap-1/Nrf2/ARE дозволяє припустити клінічну ефективність терапії патології пародонта.

Таким чином, одержані результати можуть використовуватися як підґрунтя для розробки нових підходів до патогенетичної терапії запальних захворювань пародонта.

Автор запропонував «Спосіб експериментального моделювання системної запальної відповіді» (пат. 128236), «Спосіб експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді» (пат. 130542), «Спосіб моделювання хронічного пародонтиту» (пат. 131145).

Отримані в експерименті результати дисертаційної роботи Єлінської Аліни Миколаївни можуть бути використані у навчальному процесі для здобувачів вищої освіти на другому (магістерському) та третьому (освітньо-науковому) рівнях, а також при написанні монографій і посібників та слугувати базою для подальшого вивчення механізмів

розвитку запально-дистрофічних процесів у пародонтальному комплексі та розробки нових способів їх патогенетичної терапії.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії; кафедрах патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Національного фармацевтичного університету, Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Харківського національного медичного університету; на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету; на кафедрі клінічної патологічної фізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (цикл «Загальна патофізіологія в клінічній медицині (для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів)»).

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Автором виконаний достатній обсяг експериментальних досліджень на 230 білих щурах-самцях. Проведено наступні серії дослідів з вивченням необхідних показників: у першій серії досліджували інтактних тварин, у другій – після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді, у третій серії моделювався ліпополісахарид-індукований гострий гінгівіт, у четвертій серії відтворювався ліпополісахарид-індукований гострий гінгівіт на тлі загальної запальної реакції, у п'ятій – гострий гінгівіт за допомогою місцевого застосування розчину гідроксиду натрію, у шостій серії відтворення гострого гінгівіту розчином гідроксиду натрію проводилося на тлі загальної запальної реакції, у сьомій, восьмій, дев'ятій, десятій серіях на тлі загальної запальної реакції застосовувалися інгібітор активації NF-κB, водорозчинний комплекс кверцетину з

полівінілпіролідом, інгібітор активації AP-1, інгібітор STAT-3 відповідно. В одинадцятій серії застосовувався індуктор системи Кеер-1/Nrf2/ARE на тлі загальної запальної реакції. У дванадцятій-шістнадцятій серіях за умов системного та локального введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* вводили розчинну форму кверцетину (12 серія), застосовували інгібітор активації AP-1 SR 11302 (13 серія), індуктор системи Кеер-1/Nrf2/ARE (14 серія), поєднане введення водорозчинної форми кверцетину і SR 11302 (15 серія), поєднане введення водорозчинної форми кверцетину і індуктора системи Кеер-1/Nrf2/ARE (16 серія).

Усі досліди на тваринах виконані з дотриманням вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Кількість дослідів достатня для узагальнення та висновків. Використаний великий за переліком та достатній за інформативністю для обґрунтування наукових положень і висновків обсяг експериментальних, біохімічних, функціональних, статистичних методів дослідження. Методи досліджень відповідають поставленим завданням.

Сформульовані автором наукові положення, отримані на підставі експериментальних досліджень, переконливі і аргументовані.

Наукові положення і висновки конкретні, значні та витікають із суті проведених досліджень. Практичні рекомендації витікають із висновків. Все це дозволяє вважати наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, цілком обґрунтованими.

Обсяг і методичний рівень експериментального дослідження дозволяють вважати наукові положення, висновки і рекомендації вірогідними. Вони документовані фактичним матеріалом, наведеним у 41 таблиці та 34 рисунках. Результати досліджень оброблені статистично з використанням сучасних статистичних методів дослідження.

Результати роботи можуть слугувати експериментальною основою для розробки нових підходів до патогенетичної терапії запальних захворювань пародонта на підставі ролі досліджених редоксчутливих факторів транскрипції у патогенезі функціонально-структурних ушкоджень пародонта.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація оформлена за традиційною схемою у відповідності до існуючих рекомендацій. Робота викладена на 372 сторінках друкованого тексту і складається із таких розділів: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, який вміщує 601 найменування – 209 кирилицею та 392 латиницею, додатків. Робота проілюстрована 34 рисунками та 41 таблицею.

Повнота викладення основних результатів дисертації в опублікованих наукових виданнях. Дані дисертаційного дослідження викладено у 45-х наукових працях, серед яких 23 статті (із них 5 статей у журналах, включених у міжнародні науково-метричні бази Scopus та / або Web of Science, 18 – у фахових виданнях України, 5 – в іноземних періодичних виданнях (Польща, Республіка Білорусь, Республіка Таджикистан)), 20 – у матеріалах і тезах наукових конгресів, з'їздів і конференцій, 3 патенти України на корисну модель.

В опублікованих роботах за темою дисертації відбиті окремі серії результатів власних досліджень, які проілюстровано таблицями та рисунками. Матеріал викладено в логічній послідовності. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на різних наукових форумах.

Автореферат відбиває основний зміст дисертації.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату. Текст дисертації та автореферату написаний літературною мовою, викладений грамотно і логічно, з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту, технічного оформлення. Суттєвих зауважень до змісту та форми подання матеріалу немає, але хотілося б відмітити наступне:

– на наш погляд розділ 7 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» перевантажений абсолютними та відносними цифровими даними одних і тих же показників, що вивчалися. Автор ретельно проаналізував отримані дані в світлі сучасних поглядів на проблему, підкріплюючи їх багаточисленними показниками власних досліджень, але не навів графічних матеріалів, рисунків (за виключенням концептуальної схеми причинно-наслідкових зв'язків у патогенезі ураження пародонта за умов ЛПС-індукованої системної запальної відповіді), які б, безумовно, поглиблювали отримані результати та сприяли наочності;

– ствердження автора, що «патологічна система є патологічним механізмом різних форм соматичної патології» є спірним. На наш погляд, ототожнювати патологічну систему і патологічний механізм некоректно;

– початок 9 висновку «Патогенетична корекція дизрегуляторної патології пародонта, пов'язаної з утворенням патологічної системи через надмірну активацію транскрипційних чинників NF-κB, AP-1 та STAT-3, досягається шляхом індукції функціонально антагоністичної редоксчутливої системи Keap1 / Nrf2 / антиоксидант-респонсивний елемент» більш підходить для обговорення результатів досліджень, ніж до конкретного висновку.

Декілька зауважень відносно термінів, які використовує дисертант:

– замість терміну «сумарна» краще використовувати «загальна» активність NOS;

– термін «експериментальні тварини» не є коректним. Мова йде про лабораторних тварин, інтактних і задіяних в окремих серіях експериментів.

Список використаних джерел (601 джерело), можливо, занадто великий.

Зауваження стосовно наочності представлених результатів стосуються і автореферату. Принаймні концептуальну схему причинно-наслідкових зв'язків у патогенезі ураження пародонта за умов ЛПС-індукованої системної запальної відповіді, що наведена в дисертації, варто було б розмістити і в авторефераті.

Вище наведені зауваження не стосуються принципових положень та висновків дисертації, загалом носять дискусійний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертації.

В процесі рецензування виникли запитання:

1. У чому відмінність системної запальної відповіді від загальної реакції організму на запалення?

2. Один з підрозділів (1.2) огляду літератури має назву «Системна запальна відповідь – це синдром або типовий патологічний процес?». Аналізуючи дані літератури автор схиляється до думки системної запальної відповіді як типового патологічного процесу. Хотілося б почути думку самої дисертантки, в чому полягає відмінність між класичним визначенням запалення як типового патологічного процесу, в якому є вогнище запалення і загальна реакція організму на запалення, і системною запальною відповіддю на вогнище запалення?

3. Терміни «системна запальна відповідь», «системна запальна реакція» є загальноприйнятими?

4. За даними автора відтворення гострого гінгівіту шляхом місцевого введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* викликало помірну відповідь, яку автор пов'язує з концентрацією IL-10 та розвитком компенсованого перекисного окислення ліпідів у крові щурів. Які можуть бути ступені системної відповіді і на чому вони базуються?

5. Згідно з отриманими результатами, локальне введення ЛПС *S. typhi* на тлі системної запальної відповіді супроводжується збільшенням

концентрації у крові церулоплазміну та вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-реактантів), а також зменшенням антиоксидантного потенціалу порівняно з окремим внутрішньоочеревинним та внутрішньогінгівальним застосуванням ліпополісахариду. Але відмінностей у вмісті про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові не було. Чим автор це пояснює?

6. Чим, на Ваш погляд, пояснюється той факт, що пригнічення STAT-3-залежної сигналізації в меншій мірі впливає на продукування активних форм кисню, ніж інгібування NF- κ B і AP-1, не зважаючи на здатність сигнального шляху STAT-3 впливати на експресію прозапальних цитокінів TNF α , IL-1, IL-6, INF- γ , які ініціюють окисний стрес?

7. Яким чином можна пояснити збільшення в крові концентрації церулоплазміну при локальному введенні ліпополісахариду *Salmonella typhi* на тлі системної запальної відповіді, тоді як антиоксидантний потенціал за цих умов зменшується порівняно з окремим внутрішньоочеревинним та внутрішньогінгівальним застосуванням пірогеналу? Адже церулоплазмін є антиоксидантом.

8. В чому перевага запропонованого Вами способу моделювання хронічного пародонтиту?

9. Майже в кожній групі автор використовував не менше 15 щурів. Чим обумовлена така кількість тварин?

Відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертаційна робота Єлінської Аліни Миколаївни виконана за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки) згідно з паспортом спеціальності (п. 2.4 напрямів досліджень: «Моделювання патологічних станів, процесів і хвороб з метою вивчення загальних і спеціальних закономірностей порушень і відновлення діяльності органів і

функціональних систем організму, а також експериментальної терапії цих порушень»).

Дисертація Єлінської Аліни Миколаївни «Роль редоксчутливих факторів транскрипції у розвитку дизрегуляторної патології пародонта та шляхи її експериментальної терапії» є самостійною завершеною науковою працею, яка вносить вагомий внесок у розв'язання актуальної наукової проблеми, що стосується з'ясування нових підходів до патогенетичної терапії запальних захворювань пародонта на підставі з'ясування ролі редоксчутливих факторів транскрипції (NF-κB, AP-1, STAT-3, Nrf2) у механізмах дизрегуляторних функціонально-метаболічних і структурних розладів пародонта щурів за умов дії місцевих і системних патогенних чинників.

За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень дисертація відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року, (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), а Єлінська Аліна Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Головний консультант-експерт відділу
експериментальної нейрохірургії та
клінічної фармакології
Державної установи «Інститут нейрохірургії
ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»,
доктор медичних наук, професор

Т.В. Звягінцева



Аліна

Т.В.

Звягінцева
З
Звіти до своєї завіряно.
(Миколаїв А.М.)