

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО МГМСУ им

А.И. Евдокимова Минздрава России

Е.А. ВОЛЬСКАЯ



2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов» выполнена на кафедре биологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель ученой степени Островская Ирина Геннадьевна работала в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре биологической химии в должности доцента.

В 2006 году окончила государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по специальности «Стоматология».

В 2008 году защитила кандидатскую диссертацию «Влияние стресса на метаболические процессы в пульпе зуба» по специальностям: 14.01.14 – Стоматология, 03.01.04 – Биохимия.

С 2014 года по настоящее время работает в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре биологической химии в должности доцента.

Научные консультанты:

Вавилова Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой биологической химии;

Митронин Александр Валентинович, Заслуженный врач Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой кариесологии и эндодонтии.

По итогам обсуждения диссертации Островской Ирины Геннадьевны «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов» принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования

Пульпа зуба представляет собой особый вид соединительной ткани, в которой расположен слой одонтобластических и других клеток. С середины XX века ведутся интенсивные исследования биологической роли пульпы зуба с применением широкого спектра морфологических, микробиологических и биохимических методов. В результате этих исследований была доказана ведущая роль пульпы в защите структур твердых тканей зуба от повреждения, что в первую очередь реализуется за счет разнообразия её клеточного состава. Метаболически активное состояние пульпы является важнейшим условием здоровья и сохранности зуба. Она обеспечивает защиту эмали и дентина от инвазии патогенов, осуществляет доставку органических и неорганических компонентов через отростки одонтобластов в минеральную зону зуба (Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008). Большое количество кровеносных капилляров и нервных волокон делает пульпу зуба крайне чувствительной к различным воздействиям внешней и внутренней среды (Быков В.Л., 1998). Скоординированные реакции, протекающие в пульпе зуба и периодонте, обеспечивают динамическое равновесие в период адаптации зубочелюстной системы к изменению условий внешней и внутренней среды.

Реакцию пульпы зуба вызывают стоматологические манипуляции, анестетики и лекарственные препараты, воздействие на зуб различных видов излучений и критических температур (Мороз Б.Т. с соавт., 1989; Кортуков И.В., 1997; Коржукова М.В., 2001; Зюзьков Д.И., 2004; Путь В.А., 2005; Стюф Я.В. 2007; Махмудов Д.Т., 2007; Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008; Рассадина А.В., 2008; Московский А.В., 2009; Митронин А.В., Чунихин А.А., 2010; Максимовский Ю.М., Митронин А.В., 2011; Харченко Д.А., 2013; Шамхалов Д.И., 2013). Сдвиги в метаболических процессах пульпы зуба может вызывать попадание различных химических соединений в живой организм, как с пищей, так и в виде лекарственных средств (Краснова Е.А., Деньга О.В., 2011; Лолаева А.В., 2011). Развитие кариозного процесса

сопровождается образованием полости в зубе, в которую по мере её разрастания попадают различные патогены, являющиеся причиной воспалительной реакции в пульпе зуба. Сложившаяся ситуация нередко приводит к осложнениям воспалительного характера, но уже в тканях, окружающих зуб. Поэтому необходимо всестороннее исследование реактивности пульпы зуба для предупреждения врачебных ошибок в процессе лечения пульпита.

Анатомическая изолированность от внешней среды и тесное пространство эволюционно наделили пульпу мощными механизмами специфической защиты - врождённым и приобретённым (Вавилова Т.П., Островская И.Г., 2008). Пульпа зуба является источником большого числа плюрипотентных клеток, которые могут способствовать ее регенерации (Велиханова Л.К., Фирсова И.В., 2013). Однако, несмотря на имеющийся регенеративный потенциал, патологические процессы, вызываемые бактериальной микрофлорой и изменениями параметров окружающей среды, зачастую приводят к необратимым изменениям в пульпе зуба (Островская И.Г., 2008; Сирак С.В. с соавт., 2011; Паразян Л.А., 2017).

Известно, что ответ организма на любое воздействие сопровождается последовательностью реакций, как на физиологическом, так и биохимическом уровне, которые обеспечивают устойчивость организма к факторам внешней и внутренней среды (Перцов С.С. с соавт., 2010). Под воздействием раздражающих факторов в клетках происходит изменение экспрессии генов, что приводит к изменению уровня синтеза определенных белков (Ferris D.K. et al., 1988), которые могут обеспечить защитную реакцию, запустить пролиферацию клеток или активировать апоптоз (Feng Q., et al., 2017). В последнее время особое место в реализации защитной реакции тканей полости рта отводится антимикробным пептидам, обладающим широким спектром протекторных свойств (Вавилова Т.П. с соавт., 2015).

Таким образом, несмотря на многочисленные исследования, единого взгляда на оценку регенеративных возможностей собственно ткани пульпы пока не существует. В связи с этим изучение роли различных белков и пептидов в реализации ответа пульпы зуба на различные стимулы представляется особенно важным для выявления механизмов адаптации этой ткани, как при воспалении, так и при воздействии ятрогенных факторов. Понимание этих механизмов может заложить основу для разработки новых подходов к терапии в стоматологии.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Автором были проведены исследования на 940 образцах пульпы резцов 240 белых беспородных крысах-самцах и 539 образцах пульпы зуба человека в норме и при воспалении. Были разработаны оригинальное средство для лечения воспаления пульпы временного зуба биологическим методом; неинвазивная методика для выявления обратимости воспалительных процессов в пульпе временного зуба по соотношению активности аланиновой и аспартильной трансаминаз в десневой жидкости. Опубликовано 2 патента РФ на изобретение.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации

позволяют считать их законными цитатами.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне с использованием статистических методов: тесты Стьюдента, Вилкоксона, Манна-Уитни, корреляционный метод по Спирмену, графики Quantile-quantile. В работе использованы современные методики электронно-микроскопические, спектрофотометрические, турбодиметрические, иммуноферментного анализа, электрофоретического разделения белков, адекватные цели и задачам исследования. Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований со статистической обработкой результатов с помощью программ «Statistica 8.0», «Microsoft Excel 10.0». Достоверность первичных материалов подтверждена их экспертной оценкой и не вызывает сомнений. Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

Новизна результатов проведенных исследований

Проведены комплексные исследования по установлению роли белков и пептидов в реакции клеток пульпы человека и крыс на различные факторы, ранее не изученные в данном аспекте.

Впервые было проведено сравнительное исследование активности ферментов и содержания широкого спектра растворимых белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов в норме, при глубоком кариесе и различных формах воспаления пульпы. В пульпе временных зубов человека в норме и при хроническом воспалении впервые было изучено количество основного фактора роста фибробластов- β , инсулиноподобного фактора роста-1, β -трансформирующего фактора роста, остеокальцина, аннексина V, гомоцистеина, лактоферрина, каспазы-9, костного изофермента щелочной фосфатазы. Впервые в пульпе временных зубов в стадию резорбции корня была выявлена активность глутатионпероксидазы, отсутствующая в пульпе зубов человека и крыс с завершённым апексогенезом. В пульпе постоянных зубов человека при остром пульпите впервые была изучена активность моноаминоксидаз типа A и B, и семикарбазид-чувствительной. Впервые в пульпе временных и постоянных зубов рассчитан коэффициент резорбции дентина по соотношению sRANKL/OPG. Впервые было сопоставлено количество аннексина V, каспазы-9 и фактора некроза опухоли- α в образцах пульпы временных и постоянных зубов в норме и при хроническом пульпите с результатами электровозбудимости пульпы зуба.

Впервые в десневой жидкости по количеству провоспалительных цитокинов и лактоферрина, активности аспартильной и аланиновой трансаминаз была проведена оценка жизнеспособности клеток пульпы временных зубов. Впервые была разработана и внедрена лечебная паста на основе оксида кальция и борнеола и биохимически подтверждена её эффективность для длительной сохранности жизнеспособности клеток корневой пульпы временных зубов.

Получены новые данные, отражающие реакцию клеток пульпы резцов крыс на иммобилизацию, введение экзогенного мелатонина, ингибиторов толл-подобного рецептора-4 и синтеза карнитина, а также высокосахарозную диету и селен. Впервые по активности щелочной фосфатазы и кальций-связывающих белков выявлена реакция одонтобластов пульпы резцов крыс на повреждение слизистой оболочки полости рта и установку силового модуля с усилием 100 г/с на резцы и моляры крыс.

Практическая значимость результатов проведенных исследований

Новые сведения об обменных процессах в пульпе зуба позволили получить значимые теоретические результаты в области прикладной биохимии, изучающей метаболические процессы в тканях полости рта. Инновационные сведения о реактивности и резистентности пульпы зуба вошли в основу учебной образовательной программы ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России по специальности 31.05.03 «Стоматология». Издано учебно-методическое пособие и монография.

Показатели десневой жидкости наряду с клиническими параметрами, обобщены с целью их использования для диагностики обратимых и необратимых изменений в пульпе зуба и переходе воспаления на периодонт. На основании изученного спектра белков и целого ряда ферментов показана несостоятельность репаративных процессов при развитии пульпита постоянных зубов для восстановления пульпы до исходного уровня и благоприятный исход лечения возможен только на стадии глубокого кариеса. В практическое здравоохранение внедрено оригинальное средство для лечения воспаления пульпы временных зубов биологическим методом (патент RU 2554809 от 01.06.2015); получен инновационный результат с коммерческим эффектом по внедрению в НИР неинвазивной методики для диагностики воспалительных процессов в пульпе временного зуба по соотношению активности аспартильной и аланиновой трансаминаз в десневой жидкости (патент RU 2558985 от 09.07.2015).

Ценность научных работ соискателя

Ценность научных работ диссертанта состоит в том, что в них поставлены и решены задачи, касающиеся состояния пульпы как временных, так и постоянных зубов при воспалении; смоделированных ситуаций, вызывающих реакцию пульпы зуба, которую отражают белковые молекулы. В научных трудах Островской И.Г. проанализирована роль протеома пульпы в обеспечении регенерации молекулярных структур пульпы в ответ на раздражение, вызываемое различными факторами, предложены методики купирования воспалительной реакции в пульпе зуба и оценки состояния пульпы и периодонта при воспалении не только по количественным, но и качественным характеристикам белково-пептидных маркеров.

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертация посвящена изучению роли протеома пульпы зуба при воздействии различных факторов. Она соответствует паспорту специальности 03.01.04 Биохимия (медицинские науки).

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,
опубликованных соискателем**

По материалам диссертации опубликовано 42 печатных работы, полно отражающих основные положения диссертации, в том числе 2 патента РФ, 17 публикаций в журналах перечня ВАК Минобрнауки России:

1. Вавилова Т.П. Особенности метаболических процессов в пульпе зуба при воспалительном стрессе [Текст] / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Ю.Г. Гаверова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // Российский стоматологический журнал. – 2007. - № 4. – С.13-14.
2. Вавилова Т.П. Сравнительная оценка метаболизма пульпы зуба в молочных и постоянных зубах у детей в норме и при хроническом пульпите [Текст] / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Ю.Г. Гаверова, Е.А. Савинова, О.С. Ковылина // Стоматология детского возраста и профилактика. –2008. - Том VII, № 4 (27).– С.17-20.
3. Островская И.Г. Исследование содержания белков-маркеров апоптоза в пульпе временных и постоянных зубов при воспалении [Текст] / И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // «Эндодонтия Today». – 2010. - № 4. – С.23-25.
4. Вавилова Т.П. Реакция клеток пульпы временных и постоянных зубов на хроническое воспаление [Текст] / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, Е.А. Савинова // Российский стоматологический журнал. – 2010. - № 4. – С.8-9.
5. Островская И.Г. Исследование белков воспалённой пульпы временных зубов в начальной стадии резорбции корней [Текст] / И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Е.А. Савинова // «Эндодонтия Today». – 2011. - № 1. – С.7-9.
6. Островская И.Г. Исследование содержания белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене в пульпе постоянных зубов при воспалении [Текст]/ И.Г. Островская //«Эндодонтия Today». – 2011. - № 3. – С.11-13.
7. Островская И.Г. Реакция иммунокомпетентных клеток пульпы временных зубов на прямое покрытие различными лечебными прокладками [Текст] / И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова, К.В. Мазур, Е.В. Савинова // Аллергология и иммунология. – 2013.- Том 14, № 2. – С.155-155.
8. Вавилова Т.П. Биохимические параметры состояния периодонта при лечении пульпита временных зубов методом пульпотомии [Текст] / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова, Е.А. Савинова // Российская стоматология. – 2013. - № 4. – С.12-15.
9. Вавилова Т.П. Исследование реакции клеток пульпы временных зубов после лечения методом пульпотомии с применением различных препаратов [Текст] / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, И.С. Щербина, Л.П. Кисельникова // Эндодонтия Today. – 2014. - № 1(29) – С.34-37.
10. Островская И.Г. Реакция пульпы резцов крыс на силовой модуль [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, Л.М. Ерофеева, А.В. Митронин, Д.А. Селезнёв // Эндодонтия Today. – 2014. - № 2. – С.32-35.
11. Островская И.Г. Исследование механизмов инактивации активных форм кислорода в пульпе зуба [Текст] / И.Г. Островская, А.В. Митронин, Т.П.

- Вавилова, Т.П. Плюхина // Стоматология. – 2014. – Том 93, № 6. – С.20-21.
12. Островская И.Г. Исследование ингибирования транспорта жирных кислот в матрикс митохондрий клеток пульпы резцов крыс [Текст]/ И.Г. Островская, Т.П. Вавилова, А.В. Митронин, Ю.Г. Гаверова // CATHEDRA. Стоматологическое образование. – 2015. - № 53. – С.12-16.
 13. Вавилова Т.П. Антимикробные пептиды – многофункциональная защита тканей полости рта [Текст]/ Т.П. Вавилова, Н.И. Деркачева, И.Г. Островская// Российская стоматология. – 2015. - Том 8, № 3. – С.3-12.
 14. Плюхина Т.П. Стоматологическая заболеваемость детей Москвы по данным детского отделения клинического центра стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова [Текст]/Т.П. Плюхина, И.Г.Островская, И.И.Маланчук и др.//Российская стоматология. – 2016. - № 1, том 9. – С.68-69.
 15. Островская И.Г. Влияние модулятора и ингибитора TLR4 на биохимические показатели пульпы резцов крыс [Текст] / И.Г.Островская, С.С.Перцов, А.Ю.Абрамова и др. // Эндодонтия today. – 2016. -№ 4. – С.7-11.
 16. Островская И.Г. Влияние экзогенного мелатонина на метаболические процессы в пульпе резцов крыс при иммобилизационном стрессе [Текст]/И.Г. Островская, С.С.Перцов, Т.П. Вавилова и др.// Эндодонтия today. – 2017. -№ 1. – С.16-19.
 17. Вавилова Т.П. Исследование влияния нутриентов, содержащих сахарозу и селен, на метаболические процессы в пульпе резцов крыс [Текст] // Т.П. Вавилова, И.Г.Островская, Л.Т. Малышкина, А.В. Митронин / Эндодонтия today. – 2017. -№ 2. – С.31-33.

Диссертация «Роль белков и пептидов в обеспечении резистентности тканей комплекса пульпа-периодонт при воздействии различных факторов» Островской Ирины Геннадьевны, представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны новые положения о роли белков и пептидов в пульпе временных и постоянных зубов человека и резцов крыс при воздействии различных факторов, что можно квалифицировать как научное достижение и открытие нового направления в биомедицинских исследованиях, имеющее важное медико-социальное значение.

Диссертация соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук и рекомендуется к защите по специальности 03.01.04-Биохимия (медицинские науки).

Заключение принято на совместном заседании кафедр биологической химии, общей и биоорганической химии, нормальной анатомии человека, кариесологии и эндодонтии, пропедевтической стоматологии, хирургической стоматологии, ортопедической стоматологии и протетики ФГБОУ ВО

