

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, доктора медичних наук, професора кафедри стоматології та терапевтичної стоматології ХМАПО Куцевляк В.Ф. на дисертаційну роботу Вишневської Ганни Олександрівни «Патологічне обґрунтування регенеративної терапії у комплексному лікуванні осіб з хронічним генералізованим пародонтитом» подану на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія у спеціалізовану вчену раду Д 41.563.01 при Державній установі «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України»

### Актуальність теми

Патологія пародонту на сьогодні залишається найросповсюдженішою проблемою серед стоматологічних захворювань, незважаючи на те, що в наукових дослідженнях цим питанням приділяють велику увагу – постійно доповнюються знання по патогенезу захворювань, удосконалюються методи профілактики та лікування.

У стоматологічній практиці у складі комплексної терапії запальних процесів застосовують антибактеріальні, нестероїдні протизапальні препарати й імуномодуючі засоби, однак, застосування цих препаратів на тлі порушеної імунобіологічної реактивності організму найчастіше сприяє переходу гострих запальних процесів в підгострі і хронічні, ускладнює процеси відновлення (Luisetal, 2019).

Існуючі методи лікування генералізованого пародонтиту в даний час не завжди ефективні і потребують удосконалення та детальної уваги до можливостей використання таких регенеративних методик, як плазмотерапія та препарати гіалуронової кислоти для відновлення пародонтального комплексу, підвищення активності антиоксидантної системи організму і пролонгування отриманих результатів лікування.

Регенеративна медицина і тканинна інженерія спрямовані на відновлення як структури, так і функцій пошкоджених тканин (Lin Z, Rios H.F. et al, 2018).

Все вищевикладене свідчить про актуальність даної проблеми, що й послужило основою даної дисертаційної роботи.

Достовірність та новизна наукових положень, висновків, рекомендацій.

Наукове та практичне значення дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Вишневської Ганни Олександрівни виконана в межах науково-дослідних робіт ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України»

- Дослідити ефективність пептидних біорегуляторів і тромбоцитарних факторів росту при лікуванні захворювань пародонту» (ДР№0114U000381).

- «Корекція патогенетичних механізмів порушень метаболізму в тканинах ротової порожнини у пацієнтів в залежності від екологічних та аліментарних факторів, що впливають на вуглеводний та ліпідний обмін» (ДР№0118U006996).

Здобувач була співвиконавцем окремих розділів зазначених тем.

Дисертаційна робота Вишневської Ганни Олександрівни – виконана на сучасному рівні, побудована за традиційним планом, викладена українською мовою на 396 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу Матеріали та методи дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, переліку використаної літератури (320 джерел, з яких 209 написано латиницею) і додатку. Робота ілюстрована 173 малюнками, містить 28 таблиць.

У експерименті використовували 298 білих щурів лінії Вістар, обох статей, масою 200-250г. Всього було проведено 5 серій експериментальних досліджень.

У клінічних дослідженнях приймали участь 260 хворих, які звернулися за пародонтологічною допомогою з приводу лікування генералізованого пародонтиту хронічного перебігу, II-III ступеня тяжкості, були відібрані 147 пацієнтів для участі у дослідженні.

Мета дослідження – експериментально-клінічне обґрунтування нової концепції комплексного лікування осіб з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості з використанням регенеративних методик.

Для досягнення мети дослідження були визначені 8 завдань. Для їх рішення були використані сучасні високоінформативні методи дослідження: експериментальні, функціональні і статистичні.

### Наукова новизна

На основі багатопланових експериментальних і клініко-лабораторних досліджень запропонована та обґрунтована концепція лікування хворих з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості шляхом підвищення регенеративних можливостей тканин пародонту за допомогою плазмотерапії та гіалуронової кислоти.

Вперше на експериментальних моделях пародонтиту науково обґрунтовано застосування різних форм аутоплазми (ін'єкційної та плазмогелю), про що свідчить вірогідне зниження вмісту малонового діальдегіду та збільшення активності каталази в яснах та сироватці крові щурів.

Встановлено, що комбіноване застосування плазмогелю та гіалуронової кислоти стимулює кістковий метаболізм, на що вказує підвищення кислотої та лужної фосфатази у першому періоді лікування та зменшення активності кислотої фосфатази на 50% лужної – на 44,25% у другому періоді лікування.

В експерименті на «перекисній» та «лігатурній» моделях пародонтиту доведено, що використання препаратів, підвищуючих регенераторні можливості пародонту (ін'єкційні форми аутоплазми та плазмогелю з гіалуроновою кислотою), призводять до зниження загальної протеолітичної активності, активності еластази, лужної фосфатази, підвищення інгібітору трипсину в сироватці крові, зниження ступеню атрофії альвеолярного відростка щелеп.

На основі морфологічних досліджень встановлено, що використання ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми у тварин на «перекисній» моделі пародонтиту призводить до активного процесу репаративної регенерації сполучної тканини, активного процесу ремоделювання кісткової тканини.

Уперше теоретично обгрунтована, підтверджена в експериментальних та клінічних умовах доцільність застосування регенеративної терапії у комплексному лікуванні хворих з генералізованим пародонтитом II – III ступенів важкості хронічного перебігу.

На основі вивчення ефективності дії різних препаратів аутоплазми встановлено, що найбільш виражений терапевтичний ефект відмічається при застосуванні плазмогелю в комбінації з гіалуроновою кислотою та і –PRF для підтримуючої терапії кожних 6 місяців.

Практичне значення роботи полягає у тому, що автором розроблена патогенетично обгрунтована та запропонована методика підвищення регенеративних можливостей тканин пародонту при генералізованому пародонтиті хронічного перебігу, II-III ступеня важкості за допомогою плазмотерапії та гіалуронової кислоти, що підвищує ефективність лікування пародонтиту.

Розроблено способи консервативного лікування генералізованого пародонтиту з використанням регенеративних препаратів (патент №116957 від 12.06.2017р.; патент №135219 від 25.06.2019р.), що призводило до зменшення глибини пародонтальних кишень, зменшення глибини рецесії, зменшення втрати епітеліального прикріплення та рухливості зубів.

Запропоновано спосіб хірургічного лікування генералізованого пародонтиту, який передбачає застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, та гіалуронової кислоти у поєднанні з колагеновою мембраною.

## Оцінка змісту роботи, її значення в цілому, зауваження щодо оформлення.

У вступі дисертант переконливо обгрунтовує актуальність проблеми, її значення для сучасної стоматології, мету та завдання дослідження, науково-практичну значимість роботи.

Огляд літератури присвячений сучасним теоріям патогенезу та підходам до лікування хронічного генералізованого пародонтиту, складається з вісьми підрозділів, в яких наведені автором такі питання: інтенсивність і поширеність захворювань пародонту; сучасні аспекти етіології та патогенезу запальних захворювань тканин пародонту; основні напрямки комплексної терапії пародонту; основи регенеративної терапії хронічного генералізованого пародонтиту; гіалуронова кислота: особливості будови і властивості; анатомо-функціональні особливості амніотичної мембрани та механізми терапевтичної дії амніотичної мембрани, механізм дії збагаченої тромбоцитами аутоплазми.

За даними літератури дисертант наводить наступне: в даний час більшість дослідників сходяться на думці, що пародонтит є поліетіологічним захворюванням, провідну роль в якому грають мікробіологічні, імунологічні та запальні зміни на тлі генетичної схильності. Тому, за результатами багатьох дослідників, комплексна терапія пародонтиту повинна включати лікарські засоби, здатні впливати на всі ланки патогенезу. Далі автор наголошує, що в теперішній час отримано позитивні результати впровадження в медичну практику досягнень молекулярної та клітинної біології з трансплантації різних регенеративних речовин, в тому числі і стовбурових клітин, з метою заміщення в організмі втрачених і зношених тканин. У цьому полягає основний напрямок регенеративної (відновлювальної) медицини, який базується на здатності живих організмів з часом відновлювати пошкоджені тканини, а іноді й цілі втрачені органи. До нових лікарських засобів можна віднести низькомолекулярні пептидні біорегулятори і аутологічну плазму, збагачену тромбоцитами.

На прикінці огляду літератури дисертант дійшла до висновку що ці питання потребують подальшого вивчення як в експериментальних так і в клінічних дослідженнях.

У цілому огляд літератури читається з інтересом, свідчить про досконале вивчення дисертантом літератури, зауважень не викликає, на прикінці розділу є заключення.

Другий розділ роботи присвячений викладанню матеріалів та методів дослідження.

Експериментально-клінічні дослідження виконували на 2 експериментальних базах, в ДУ «ІСЦЛХ НАМН» м.Одеса та в лабораторії клітинної терапії на базі кафедри клінічної анатомії Тбіліського державного медичного університету, м.Тбілісі, Грузія, а також дослідження мікроциркуляції тканин пародонту проводили на базі українського інституту пластичної хірургії і косметології «Віртус», м.Одеса.

Експериментальні дослідження були проведені на білих щурках стадного розведення обох статей, масою 200-250г. Всього було проведено 5 серій експериментальних досліджень, в яких було використано 298 лабораторних тварин. У експериментальних тварин відтворювали 5 експериментальних моделей (перекисну, лігатурну, модель дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка, модель дефекту альвеолярної кістки, модель мукогінгівального дефекту.

У клінічному обстеженні всього приймали участь 260 хворих з хронічним генералізованим пародонтитом, з них були відібрані 147 пацієнтів для участі у дослідженні ефективності лікування консервативними та хірургічними регенеративними методиками.

Дисертантом були використанні експериментальні дослідження – для оцінки стану пародонтального комплексу та ефективності застосування регенеративних методик на різних моделях пародонтиту; клінічні – для оцінки пародонтального статусу у пацієнтів з хронічним генералізованим

пародонтитом II-III ступеня важкості при застосуванні консервативних та хірургічних регенеративних методик; біохімічні – для визначення ферментативної активності біоптатів ясен, кістки щелеп, сироватки крові експериментальних тварин та ротової рідини пацієнтів; морфологічні для оцінки процесу регенерації тканин пародонтального комплексу; функціональні – для оцінки стану мікроциркуляторного русла та судин пародонта; статистичні – для об'єктивізації отриманих даних.

Другий розділ викладений на 36 сторінках, включає 11 підрозділів, усі методи дослідження викладені докладно, що свідчить про всебічне обстеження пацієнтів.

Третій розділ роботи присвячений стану тканин пародонту у хворих генералізованим пародонтитом II-III ступеня, який складається із 3-х підрозділів, в яких докладно викладені основні показники – глибина пародонтальних кишень, рецесія ясен, рівень гігієни за індексом О'Лірі, індекс кровоточивості ВОР, показники мікроциркуляції, данні рентгенологічного дослідження та інші.

Розділ ілюстрований мікрофотознімками і ортопантомограмами.

На прикінці розділу дисертант резюмує, що більше половини пацієнтів зверталися за стоматологічною допомогою маючи симптоми захворювань пародонту близько 5 років. Дані комплексного стоматологічного обстеження свідчать про наявності скарг пацієнтів на біль, кровоточивість ясен, рухливість зубів, гіперестезію, неприємний запах з рота, що проявляється високими показниками індексної оцінки, що відповідає хронічному генералізованому пародонтиту II-III ступеня важкості, і відбувається на істотному зниженні якості життя.

Розділ зауважень не викликає.

Четвертий розділ роботи присвячений експериментальному обґрунтуванню застосування комбінованих регенеративних препаратів

аутоплазми та гіалуронової кислоти, складається із 3-х підрозділів, в яких наведено вплив аутоплазми, плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти на тканини пародонту в умовах моделювання пародонтиту у щурів.

Оцінка регенеративних можливостей пародонтального комплексу з використання регенеративних препаратів при консервативному та хірургічному лікуванні в експерименті показала:

- при лікуванні пародонтиту на «перекисній» моделі після ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми у другому терміні спостереження у щурів відзначається вірогідне зниження рівня МДА в 1,2 рази в яснах та в 1,4 рази в сироватці крові. При цьому активність каталази в яснах у щурів збільшується в 1,3 рази та у сироватці крові в 1,6 разів, що свідчить про нормалізацію процесів в системі ПОЛ-АОС. А також вірогідне підвищення активності ЛФ в 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження ( $p < 0,001$ ), що говорить про активацію процесу ремоделювання кістки ( $p < 0,001$ ). Результати морфологічних досліджень ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми показали двухфазність впливу на пародонтальні тканини. Одразу після завершення курсу ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми відзначається активація метаболічних та регенеративних процесів в пародонті, запускається активний процес ремоделювання кісткової тканини – посилення остеокластичної резорбції «старої» кістки та формування «нової» кістки. У віддалені терміни спостереження відбувається формування нового епітеліального прикріплення, відновлення структури сполучної тканини з багатою кількістю новоутворених судин, стабілізація кісткової резорбції.

- при використанні плазмогелю та гіалуронової кислоти на «лігатурній» моделі пародонтиту було доведено, що застосування комплексу препаратів плазмогель та гіалуронова кислота має протизапальні властивості, про це свідчить вірогідне зниження ЗПА, як в I терміні у самок  $1,0 \pm 0,08$  нкат/л і у самців  $1,15 \pm 0,09$  нкат/л, так і II терміні у самок  $0,78 \pm 0,04$  нкат/л і самців  $0,84 \pm 0,07$  нкат/л, що майже дорівнює показникам норми.



Комбінація плазмогелю та гіалуронової кислоти дозволяє підвищити захисні можливості організму, що доведено вірогідним підвищенням інгібітору трипсину в сироватці крові щурів у самок в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,6 раз, у самців в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,4 рази ( $p < 0,001$ ).

На підставі проведених експериментальних досліджень автор робить висновки, що ін'єкційне введення аутологічної плазми, щурам з експериментальним пародонтитом призвело до активації процесу ремоделювання кістки, про що свідчить вірогідне підвищення активності лужної фосфатази в 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження ( $p < 0,001$ ).

Комбіноване застосування плазмогелю та гіалуронової кислоти стимулює кістковий метаболізм на що вказує підвищення активності кислої фосфатази та лужної фосфатази у першому терміні лікування та вірогідне зниження у другому терміні лікування.

Дисертант робить висновок, що при застосуванні препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти у всіх структурах пародонту відбувається зменшення окисного стресу та підвищуються захисні сили організму тварин.

Розділ закінчується резюме і списком джерел у яких викладені матеріали розділу, зауважень не викликає.

П'ятий розділ роботи присвячений морфологічним змінам в пародонтальному комплексі щурів при застосуванні консервативних та хірургічних регенеративних методік, складається із 7 підрозділів в яких розглядаються наступні питання:

- методика створення децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і гіалуроновою кислотою; морфологічні дослідження лікування «перекисного» пародонтиту у щурів з використанням ін'єкційної тромбоцитарної аутоплазми; ефективність лікування дефекту слизової оболонки альвеолярного відрота нижньої щелепи щурів з використанням децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани,

децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і гіалуроновою кислотою; інтенсивність регенерації дефекту кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи з використанням децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани, децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани, децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і гіалуроновою кислотою; оцінка регенерації кісткової тканини на підставі морфологічних досліджень; результати відновлення мукогінгівального дефекту фронтальної ділянки верхньої та нижньої щелеп з використанням децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і децелюлярізованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитами і гіалуроновою кислотою; ефективність лікування дефекту пародонтальних тканин методом застосування плазмогеля з тромбоцитарною аутоплазмою і геля з високим вмістом гіалуронової кислоти.

Шостий розділ роботи досконало описує клініко-лабораторну оцінку ефективності лікування генералізованого пародонтиту при застосуванні консервативних та хірургічних регенеративних методик, термін диспансерного спостереження становить 24 місяці. Результати проведених досліджень доводять ефективність застосування препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти в комплексному лікуванні пацієнтів з ХГП II-III ступеня. При оцінці регенеративних методик лікування чітко видно, що покращення кровотоку відбулося, як в основній групі, так і в групі порівняння та у віддалені терміни спостереження, через 2 роки, можна відмітити, що показник в групі порівняння поступово починає знижуватись, а в основній групі лишається так само на високому рівні.

На основі клінічних досліджень дисертанткою доведено, що застосування хірургічних методик регенеративного лікування генералізованого пародонтиту II-III ступенів важкості призводить до зменшення глибини рецесії та відновлення епітеліального прикріплення (в основній групі на 18,9 %, в групі порівняння на 8,1 %), зменшення ураження фуркацій (на 37,8 % та 34,0 % відповідно), а також рухомості зубів (в основній групі на 56,98 %, в групі порівняння на 45,25 %).

Проведені дисертанткою біохімічні, функціональні дослідження дозволили підтвердити висновок, що при застосуванні різних препаратів аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти у пацієнтів із ХГП II-III ступеня найбільш ефективним виявився комплекс препаратів, який включав плазмогель, гіалуронову кислоту та i-PRF.

У кінці даного розділу підведене резюме та перелік опублікованих праць автора. Зауважень до даного розділу немає.

В останньому розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження», що викладений на 20 сторінках комп'ютерного тексту, автор проводить обговорення та аналіз отриманих результатів, їх теоретичне і практичне обґрунтування.

Висновки підтверджені висвітленими матеріалами дисертації і відповідають поставленим завданням та не викликають сумнівів. Дисертаційна робота має належний обсяг впроваджень та публікацій. Принципових зауважень до змісту, оформлення і стилю дисертації немає.

Автореферат повністю відображає основні положення дисертаційної роботи.

Загалом, отримані результати мають наукову цінність, добре статистично опрацьовані, відносяться до інноваційних технологій і можуть бути використані в практичній стоматології. Список використаних джерел є достатньо повним та віддзеркалює основний зміст дисертації.

За планом дискусії прошу відповісти на деякі запитання.

1. З якою метою Ви відтворювали 5 моделей пародонтиту, чи можливо було провести 5 експериментів на 1-й моделі?

2. Яким чином Ваши експериментальні дослідження співвідносяться з клінічними?

3. Як Ви можете пояснити що найбільш виражений терапевтичний ефект відмічається при застосуванні плазмогелю в комбінації з гіалуроновою кислотою та i-PRF для підтримуючої терапії?

Незначні зауваження, які були зроблені щодо оформлення дисертації не носять принципового характеру і не впливають на суть і позитивну оцінку роботи.

#### Заключення

Дисертаційна робота Вишневської Ганни Олександрівни «Патологічне обґрунтування регенеративної терапії у комплексному лікуванні осіб з хронічним генералізованим пародонтитом» є завершеним науковим дослідженням, присвяченим вирішенню актуальної проблеми стоматології, яка полягає в підвищенні регенеративних можливостей при лікуванні хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу II-III ступеня важкості шляхом розробки та застосування препаратів аутоплазми, володіючих високими регенеративними властивостями.

За своєю актуальністю та об'єктивністю висновків і практичному значенню повністю відповідає вимогам п.10 «Про порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013р. №567 (зі змінами, внесеними згідно Постанови Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015р.), а її автор Вишневська Ганна Олександрівна заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія.

Офіційний опонент

Професор кафедри стоматології

та терапевтичної стоматології ХМАПО

д.мед.н., професор



Куцевляк В.Ф.