

РЕЦЕНЗІЯ

**на дисертаційну роботу Васько Марини Юріївни
«Особливості терапевтичного лікування хронічного генералізованого
пародонтиту II ступеня тяжкості в залежності від добових біологічних
ритмів людини», подану на здобуття наукового ступеня доктора
філософії за спеціальністю 221 – «Стоматологія»**

Актуальність обраної теми дисертації, зв'язок з науковими програмами, планами, темами.

Пародонтит – мультифакторне запальне захворювання при якому запальна та імунна відповідь на дисбіотичну під'ясенну біоплівку руйнує періодонт і прилеглу кістку. Захворювання дуже поширене.

Один з напрямків, на якому зосереджена глобальна увага вчених – дослідження системного запалення. І сьогоднішнє розуміння універсальних механізмів запальної деструкції дозволяє дуже прогресивно просунутися в успішному лікуванні лікарям, зокрема, застосовуючи нові мішені терапії.

Явища та наслідки десинхронозу вивчаються зараз як один з таких механізмів внеску у системне запалення. Десинхроноз – це збої в циркадних ритмах, які сприяють таким запальним патологічним станам як остеопороз, імуноалергічні захворювання, ССЗ, рак, метаболічні синдроми і старіння [<https://www.uniprot.org/uniprotkb/O15534/entry>]. Пародонтит тісно пов'язаний із запальними системними хворобами і станами. До того ж підтверджено, що тканини ротової порожнини містять периферійний годинник [Janjić K, Kurzmann C, Moritz A, Agis H. Expression of circadian core clock genes in fibroblasts of human gingiva and periodontal ligament is modulated by L-Mimosine and hypoxia in monolayer and spheroid cultures. Arch Oral Biol. 2017;79:95–9. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.007>]. Тому в роботі підняте питання про пародонтит і вдосконалення існуючих методів прогнозування, профілактики та лікування, з урахуванням індивідуальних особливостей пацієнта, зокрема добових біоритмів. І

поставлена **мета** оптимізації лікування із застосуванням препарату із хроноособливостями. Мета є обґрунтованою та актуальною.

Сутність роботи в тому, що для оптимізації запропоновано піоглітазон на додаток до місцевого стандартного періодонтального лікування у різні часи прийому і обрано відповідний показник, за яким можна було б відстежити і відповідні порушення при пародонтиті, і наступну їх корекцію – це експресія генів *Per1*, *Cry1*, *Bmal1/ ARNTL* (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1, *ARNTL*), *Clock* (два перші – репресори транскрипції, третій та четвертий – транскрипційні активатори, всі вони разом утворюють основний компонент циркадного годинника. Циркадний годинник - внутрішня система відліку часу, яка регулює різні фізіологічні процеси через генерацію приблизно 24-годинних циркадних ритмів у експресії генів, які перетворюються на ритми метаболізму та поведінки. Також оцінено клінічні показники пародонтиту. Додатково оцінено шкалу психічного здоров'я і рівень якості життя за відповідними анкетами – це для об'єктивізації і порівняння суб'єктивних даних – скарг, та, важливо, для оцінки зв'язків з хронотипом. Хоча в роботі ці знахідки у вигляді відповідних результатів анкетування трактуються як психологічний стрес, що в принципі, впливає одне з одного. Це стислий опис ідеї та дизайну дослідження.

Важливі результати роботи – це встановлення добових коливань експресії генів *Per1*, *Cry1*, *Bmal1* та *Clock* у букальному епітелії у клінічно здорових осіб (в нормі). Ці дані відсутні у спеціальних базах про циркадіанні гени [<https://cgdb.biocuckoo.org/index.php>, <http://circadb.hogeneschlab.org/>]. Отримані результати щодо коливань/піків експресії ранок/вечір принципово співпадали із закономірністю для цих самих генів у клітинах товстого кишечника, стравоходу, легенях людини, експресії всіх генів букального епітелію, окрім *Cry1* [<http://circadb.hogeneschlab.org/human>]. З ранковим чи вечірнім хронотипом

були достовірно пов'язані тільки вечірня експресія *Clock*. Отже, встановлено певний взаємозв'язок з хронотипом. Але не вловлено достовірного статистичного зв'язку із з віком (щоправда в межах середньої вікової групи) чи статтю.

Встановлено ознаки дисрегуляції циркадної годинникової системи у пацієнтів з пародонтитом на основі зразків добової експресії обраних генів периферичного годинника. І продемонстровано як на клінічному рівні корекція десинхронозу оптимізує лікування. Отже, якщо у пацієнта є пародонтит і десинхроноз – тобто, при персоніфікованому підході – то, відповідно, тепер ми маємо інструмент для його корекції.

Піоглітазон – високоселективний агоніст γ -PPAR, який модулює транскрипцію деяких генів, чутливих до інсуліну, що беруть участь у контролі рівня глюкози та у метаболізмі ліпідів. Відомо, що препарат здатний впливати на активність компонентів периферичних молекулярних годинників. І в дослідженні він виявляє певну нормалізуючу дію на експресію генів молекулярного годинника при обох режимах прийому.

Дисертаційна робота є фрагментом НДР Полтавського державного медичного університету за держзамовленням, тема - «Внесок компонентів молекулярного годинника в ураження тканин пародонту при його запальних захворюваннях для розробки методів профілактики та лікування», ДР № 0120U101151, 2019-2022 рр. та ініціативної НДР «Диференційований підхід до вибору методик лікування в залежності від морфофункціональних особливостей твердих тканин порожнини рота, ДР № 0120U104124, 2020-2024 рр. Авторка була виконавцем фрагментів зазначених науково-дослідних робіт.

Особистий внесок автора в отриманні наукових результатів, представлених у роботі. Дисертаційна робота є закінченим самостійним дослідженням, яке вирішує поставлену задачу - з'ясувати чи є докази десинхронозу (як внеску в патогенез пародонтиту) на рівні експресії генів

молекулярного периферичного годинника у тканинах пародонту і, якщо є, то оптимізувати лікування пародонтиту шляхом корекції цього стану (за допомогою застосування препарату із хроноособливостями).

Разом із науковим керівником проф. Ткаченко І.М. автором було сформульовано тему, мету, дизайн та завдання дослідження, та сформовано висновки.

Самостійно дисертантка опрацювала літературні джерела з обраної теми, виконала патентно-інформаційний пошук, провела клінічну роботу, зібрала і підготувала зразки для досліджень, взяла участь у проведенні статистичного аналізу та інтерпретації отриманих результатів, висвітлила основні результати у публікаціях як співавтор, у т.ч. в міжнародних журналах, що цитуються у Scopus, та написала рукопис дисертації.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій. Наукові дослідження проведені на достатній кількості пацієнтів – це що стосується клінічного аналізу. Для генетичних досліджень – це був пілотний початковий крок досліджень як внесок у широкомасштабну базу, ступінь досягає третього рівня доказовості, але забезпечує безперечну новизну і актуальність.

Дизайн дослідження – по суті це інтервенційне короткострокове клінічне дослідження з чотирма групами, що включали здорових осіб за прийнятими за замовчуванням канонами, яке відповідає класичному плануванню. Група здорових осіб виступає у якості референтної для визначення внутрішньої норми для методики, для популяції і для букального епітелію, оскільки у доступних спеціальних базах даних профілю циркадних експресій наведені зразки добової експресії клітин стравоходу, товстої кишки, легень та інших тканин, окрім слизової оболонки рота). Дві експериментальних групи – з додатковим прийомом піоглітазону в різні години, порівнюються з контрольною, в якій проводили тільки стандартне (місцеве) лікування. Це дуже цікавий і складний дизайн і він

відповідає поставленій меті, а також сприяє вирішенню більш складних задач, ніж стояли перед науковцями ще 10-15 років тому. Це відображає сучасні тенденції, і міжнародний рівень актуальності досліджень, які проводяться.

Методи чітко відповідають вирішенню поставлених завдань. Звичайно, це клінічні дослідження при пародонтиті: це і старовинні методи типу індексів Рассела, ПМА, і класичні вимірювання періодонтограми. Але є й істинні критерії, які відображають реальну користь як це відчуває пацієнт, а також можуть відображати клінічний прояв розладу чи навпаки налаштування циркадних ритмів: це фізична шкала якості життя і психічна шкала якості життя, а також анкета визначення хронотипу.

Метод визначення генетичної експресії матричних РНК обраних генів молекулярного годинника – реал-тайм ПЛР, - сучасний та актуальний. Дослідження проведені на базі НДІ ГІОРПФ ПДМУ, що дуже важливо.

Отже, комплекс методів дослідження і дизайн дослідження відповідають вирішенню поставлених завдань та досягненню мети. Хоча висновки поки що здаються дещо обширними та громіздкими.

Ступінь новизни результатів дисертаційного дослідження. Новизна представленої роботи не викликає сумнів та базується на вперше визначених рівнях експресії мРНК генів *Per1*, *Clock*, *Bmall*, *Cry1* у клітинах букального епітелію здорових осіб в залежності від віку, статі та хронотипу.

Вперше виявлено, що при пародонтиті можливий внесок у патогенез і десинхронозу, який можливо виявити за рівнями експресії мРНК генів *Per1*, *Clock*, *Bmall*, *Cry1* у клітинах букального епітелію.

А також вперше з'ясовано, що врахування індивідуальних циркадних ритмів разом з анкетуванням про якість життя пацієнта може служити клінічним інструментом щоб запідозрити десинхроноз у пацієнта та слугувати показанням до його корекції в рамках лікування пародонтиту II ступеня.

Вперше проведено визначення рівня експресії мРНК генів *Per1*, *Clock*, *Bmal1*, *Cry1* у клітинах букального епітелію пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня тяжкості до та після проведеного лікування із застосуванням системного препарату із хроноособливостями.

Висновок про повноту опублікування основних положень дисертації. Основні положення дисертаційної роботи висвітлено у 8 наукових працях, із яких: 1 стаття, надрукована у фаховому виданні, рекомендованому МОН України, 2 – у закордонних виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus, 5 – тези наукових конференцій.

Наукове та практичне значення отриманих результатів та рекомендації щодо їх використання. Результати впроваджені у стоматологічних відділеннях медичних закладів м. Полтави (КП «4-а МКЛ ПМР ім. Леоніда Куроєдова», КП "Полтавський обласний центр стоматології - скп", КП «3-а МКЛ Полтавської міської ради»). Також, результати досліджень впроваджені у навчальний процес медичних закладів вищої освіти, зокрема: кафедра ортопедичної стоматології Тернопільського НМУ ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра терапевтичної стоматології НМУ ім. О.О. Богомольця, кафедра терапевтичної стоматології ДДМУ.

Практичне значення рекомендується оформити у вигляді конкретних інструкцій для лікарської діяльності, якщо це доречно.

Оцінка структури дисертації, мови та стилю викладення. Дисертаційна робота традиційно структурована, складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, розділу результати власних досліджень, аналізу та обговорення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота проілюстрована таблицями та рисунками.

У вступі обґрунтована актуальність роботи, визначена мета та завдання дослідження, об'єкт та предмет дослідження сформульовані у

відповідності до тематики дисертації, викладені наукова новизна роботи, практична значимість, наведена кількість публікацій. Наукова новизна представлена доволі стисло. Її можна розширити шляхом представлення конкретних нових отриманих результатів.

Перший розділ присвячений огляду літератури. Використані джерела літератури є сучасними, актуальними, а також є посилання на фундаментальні індекси. Зміст відповідає тематиці дослідження, та дозволяє сформулювати мету і завдання і обґрунтувати обрані методи. Можливо, підрозділ про стрес містить факти, які недостатньо пов'язують його з прогресивним розумінням теми, зокрема десинхронозу і запалення.

У другому розділі приведений дизайн дослідження, наведені дані щодо розподілу пацієнтів на групи. Клінічні методи дослідження детально представлені та добре відомі, тому опис даних методів можна було б скоротити.

Опис статистичних методів має включати які саме цифрові матеріали порівнювали і яким методом.

В третьому розділі представлені результати дослідження, послідовно, логічно, детально. Корисно навести графіки замість таблиць там де це можливо, додати достовірність на вже представлені графіки.

В розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» проведено порівняння отриманих результатів з даними інших науковців.

Висновки витікають з мети виконаної роботи та поставлених завдань, сформульовані у відповідності.

Практичні рекомендації подані у вигляді актів впровадження.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. Під час вивчення дисертаційної роботи Васько Марини Юріївни не було виявлено порушень академічної доброчесності.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача. Оформлення – без зауважень. Під час ознайомлення з

дисертацією виникли запитання, на які прошу дати відповідь:

1. Як встановлювали та верифікували діагноз хронічний генералізований пародонтит II ступеня тяжкості?
2. Чому обирали саме II ступінь?
3. Чому обрані саме гени CLOCK, BMAL1, Per1, Cry1?
4. Як проведені порівняння втрати прикріплення, глибини кишень (це I середня для пацієнта чи всі значення періодонтограми з усіма значеннями)?
5. Як порівнювали дані ОПГ і що вони показали?
6. Який профіль безпеки піоглітазону, чи його позитивні ефекти переважають над побічними ефектами?
7. Чому позитивні ефекти піоглітазону при лікуванні пародонтиту простежуються за обома режимами призначення – і вранці і увечері, всупереч рекомендаціям? І як же саме його правильно призначати, згідно вашим результатам? Це могло би бути практичним значенням.

Дисертація відповідає всім вимогам до такого виду робіт. Зауваження та побажання, які виникли в процесі ознайомлення з роботою не стосуються її змісту та наповнення, мають рекомендаційний характер та не знижують наукової та практичної цінності дослідження.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Представлена для присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 22 «Охорона здоров'я», 221 - «Стоматологія» робота Васько Марини Юріївни на тему «Особливості терапевтичного лікування хронічного генералізованого пародонтиту II ступеня тяжкості в залежності від добових біологічних ритмів людини» є завершеною самостійною працею, в якій наведено узагальнення та новий підхід до вирішення актуальної задачі – оптимізації лікування пародонтиту з використанням додаткового персоналізованого виявлення хронотипу, десинхронозу у пацієнта, та з використанням піоглітазону.

добових біологічних ритмів людини» є завершеною самостійною працею, в якій наведено узагальнення та новий підхід до вирішення актуальної задачі – оптимізації лікування пародонтиту з використанням додаткового персоналізованого виявлення хронотипу, десинхронозу у пацієнта, та з використанням піоглітазону.

За своєю актуальністю, метою і завданнями дослідження, достовірністю і обґрунтованістю отриманих результатів, висновків і практичним значенням дисертаційна робота Васько Марини Юріївни відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» та може бути представлена до розгляду в одноразовій спеціалізованій раді.

Рецензент

доцент кафедри післядипломної освіти

лікарів-стоматологів Полтавського

державного медичного університету, к.мед.н.

Вікторія ШИНКЕВИЧ

