

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Селезневой Инны Александровны на тему: «Саливадиагностика при молекулярно-деструктивных поражениях организма» по специальности 03.01.04 – биохимия (медицинские науки) на соискание ученой степени доктора медицинских наук

### **Актуальность избранной темы**

Диссертационная работа Селезневой Инны Александровны посвящена актуальной научной проблеме: выявлению новых маркеров для неинвазивной диагностики при молекулярно-деструктивных поражениях организма. Исследование метаболических процессов в организме является актуальным направлением в изучении фундаментальных основ жизнедеятельности организма. Получение достоверных маркеров диагностики патологических изменений метаболизма остается важной задачей биохимии.

Диссертант выбрала для исследования среди множества молекулярно-деструктивных поражений хронический генерализованный пародонтит, постхимиотерапевтические стоматиты у больных с острыми и хроническими лейкозами, одонтогенную флегмону. Слизистая оболочка ротовой полости богата соединительной тканью. Единство эмбрионального источника происхождения кроветворной системы и соединительной ткани приводит к частому поражению полости рта у пациентов с лейкозами. Одонтогенная флегмона была избрана диссертантом как модель молекулярных расстройств при генерализованном инфекционно-воспалительном поражении организма. Хочется отметить, что последнее время ротовая жидкость является перспективным объектом поиска для исследования, что подтверждается возросшим количеством публикаций, посвященных изучению слюны. Неинвазивное получение ротовой жидкости безболезненно, атравматично в любом возрасте. Особую ценность анализ ротовой жидкости представляет при многократных повторных определениях у больного в динамике заболевания. Исследование ротовой жидкости важно не только в теоретическом плане. Оно имеет диагностическое и прогностическое



значение. Актуальность исследования заключается ещё и в том, что все исследования автор проводит с учетом групповой принадлежности крови по системе АВО. Таким образом, диссертационная работа Селезневой Инны Александровны, заключающаяся в исследовании в ротовой жидкости новых индикаторов воспалительно-деструктивных поражений организма, является безусловно актуальной и своевременной.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации Селезневой И.А., характеризуются достаточным уровнем обоснованности. Цель и задачи исследования соответствуют выбранной теме. Объем выполненных исследований вполне достаточен. Работа выполнена на высоком методическом уровне, в соответствии с принципами доказательной медицины. Все использованные автором биохимические, иммунологические, цитологические методы исследования информативны, современны, достаточно точны и адекватны поставленным задачам. Полученные данные обработаны с использованием пакета прикладных программ методом вариационной статистики. Результаты диссертационного исследования отражены в четырёх положениях, выносимых на защиту, и четырнадцати выводах. Обоснованность научных положений подтверждается корректной постановкой исследования и тщательной детальной интерпретацией полученных результатов. Выводы логически вытекают из представленного фактического материала, в полном объеме отвечают поставленным задачам и отражают сущность работы. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на различных всероссийских, международных и региональных научных конференциях. Таким образом, объем материала, современные методы исследования и грамотный статистический анализ не позволяют усомниться в обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в данной работе.



**Достоверность и новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Формирование групп исследования, тщательный анализ и статистическая обработка данных не вызывает сомнений в достоверности полученных результатов, на основе которых были сформулированы выводы и рекомендации. Новизна исследования подтверждена пятью патентами на изобретения. Диссертант провела исследование и поиск новых маркеров воспалительно-деструктивных поражений организма.

Автор изучила в крови и ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом специфику метаболических и иммунологических изменений в зависимости от групп крови по системе АВО и установила группоспецифические особенности молекулярных процессов. Впервые установлено повышение в крови гликопротеинов А и G к ферменту трансклутаминазе при хроническом генерализованном пародонтите. Установлено, что появление антихеликобактерных антител в ротовой жидкости пациентов с носительством антигена А при хроническом генерализованном пародонтите свидетельствует об увеличении проницаемости гематосаливарного барьера. Предложен способ оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита (Патент № 84402702 от 26.01.2009).

По анализу ротовой жидкости диссертант выделила диагностические показатели первоначальных признаков стоматологических нарушений при лейкозах. Впервые проанализирован состав ротовой жидкости в зависимости от вида лейкоза и степени тяжести развившегося при этом стоматита. Предложен способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению (повышению) содержания антител к трансклутаминазе класса IgA и класса IgG в ротовой жидкости (Патент РФ № 2572696 от 20.01.2016). В зависимости от степени тяжести развившегося стоматита и направленности лейкоза в ротовой жидкости пациентов до и после химиотерапии были определены индикаторы молекулярно-



деструктивных поражений. Впервые установлено, что у пациентов с первоначальными признаками стоматологических нарушений при хроническом лейкозе после проведения химиотерапии выявлено в ротовой жидкости наибольшее количество антител к трансклутаминазе класса IgG, что приводит к дезорганизации соединительной ткани и развитию сразу стоматита средней степени тяжести.

Автор впервые рассматривает в качестве ведущего фактора повреждения соединительной ткани повышение содержания антител к трансклутаминазе и глиадину в ротовой жидкости. При этом более значительное повышение содержания этих антител было установлено при одонтогенной флегмоне, затем при постхимиотерапевтических стоматитах, сопутствующих острым лейкозам. Автором установлен молекулярный фундамент поражений пародонта при одонтогенной флегмоне – маркеры деструктивного поражения соединительной ткани антитела к трансклутаминазе. Дана характеристика цитокиновому профилю ротовой жидкости пациентов с одонтогенной флегмоной с различными группами крови по системе АВО. Использование диссертантом цитологического метода для исследования слизистой оболочки ротовой полости помогло разработать устройство для взятия браш-биопсии (**Патент на полезную модель RU 84690 от 20.07.2009**), а комплексное проведение исследований позволило создать Программу для импорта данных, полученных с биохимического анализатора COBAS INTEGRA 400 Plus (**Свидетельство № 2010611397 от 21.12.2009**) и рабочее место регистратора диагностической лаборатории (**Свидетельство №2011610473 от 11.01.2011**).

**Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Автором сформирован персонализированный подход к неинвазивной диагностике молекулярно-деструктивных поражений организма. Предложен способ оценки эффективности лечения хронического генерализованного



пародонтита. Автором индивидуализирован подход к терапии пародонтита с учетом группоспецифических особенностей организма.

Стабильность состава соединительной ткани зависит от многих факторов, в том числе от входящего в её структуру фермента трансглутаминазы. Повышение антител к трансглутаминазе – фактор дестабилизации соединительной ткани. Содержание маркеров деструктивного повреждения соединительной ткани антител к трансглутаминазе зависит от групповой принадлежности крови по системе АВО. Автором предложен способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению содержания антител к трансглутаминазе классов иммуноглобулинов А и G в ротовой жидкости.

Автор предлагает в качестве неинвазивных маркеров диагностики для выявления динамики развития молекулярно-деструктивных процессов в организме определение в ротовой жидкости интерлейкинов 6 и 8. Для мониторинга терапевтических манипуляций диссертант предлагает при одонтогенных флегмонах использовать исследование цитокинового профиля, антител к трансглутаминазе в ротовой жидкости и цитоморфологическую оценку состояния ран. Автором было установлено, что на третьи сутки от начала лечения в клеточном составе раневого содержимого повышается содержание лимфоцитов и моноцитов, появляется много дегенеративно измененных нейтрофилов. Диссертантом разработано устройство для взятия браш-биопсии. Получен патент на полезную модель.

Проведенное исследование позволило дополнить знания о нарушениях метаболизма при развитии молекулярно-деструктивных поражений организма. Предложенные способы диагностики просты в исполнении и доступны для широкого применения в биохимических лабораториях.

#### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Новые сведения о нарушении метаболизма при молекулярно-деструктивных процессах могут быть внедрены в образовательные



программы подготовки студентов и последипломного образования специалистов, а также использоваться в работе специализированных учреждений медицинского профиля. Обоснована целесообразность использования ротовой жидкости для диагностики молекулярно-деструктивных поражений. Разработаны новые медицинские технологии в диагностике воспалительно-деструктивных поражений организма.

### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности**

Диссертация представлена в 1 томе на 264 страницах, изложена в традиционной форме, состоит из введения, главы обзора литературы, главы с описанием объектов и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, включающего обсуждение результатов, выводов и рекомендаций. Список литературы включает 254 отечественных и 295 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 47 таблицами, содержит 31 рисунок.

Во введении автор обосновал выбор темы, ее актуальность, степень разработанности, цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, новизну, апробацию результатов исследования на конференциях Российского и регионального уровней.

Первая глава диссертации - литературный обзор, изложен на 54 страницах, состоит из 6 подглав, написан тщательно, чувствуется знание автором литературы. Обзор отличает информативность, логика изложения материала, хороший стиль. В первой части обзора автор описывает состав, функции, свойства ротовой жидкости и её роль в обеспечении гомеостаза организма. Основные принципы и области применения ротовой жидкости для диагностики заболеваний представлены во второй подглаве обзора литературы, а биомаркеры слюны, используемые для диагностики стоматологических заболеваний описаны автором в третьей части обзора. Отдельно в обзоре представлены молекулярные особенности воспалительно-деструктивных поражений полости рта при пародонтите. Пятая подглава обзора литературы посвящена гематосаливарному барьеру. Представлены



данные о селективной проницаемости гематосаливарного барьера при различной соматической патологии. Самая большая подглава обзора посвящена АВО- системе крови и взаимосвязи многих заболеваний с групповой принадлежностью крови.

Во второй главе, посвященной описанию **объектов и методов исследования**, автором представлены современные, информативные методы биохимического, иммунологического, иммуногематологического, цитологического анализов. Считаю очень продуманным выбор объектов исследования. Все пациенты в соответствии с целью и задачами были разделены на три группы: хронический генерализованный пародонтит (89 пациентов), постхимиотерапевтические стоматиты у больных с острыми и хроническими лейкозами (90 больных), одонтогенная флегмона (79 человек). В качестве контроля была использована ротовая жидкость и кровь 251 здорового человека. Использование пакета современных компьютерных программ статистической обработки позволило автору проанализировать полученные данные.

Собственные исследования (главы 3-5) представлены полно, полученные результаты тщательно проанализированы. Каждая глава снабжена таблицами и рисунками. В конце каждой главы дается небольшое заключение. Третья глава состоит из 4 подглав и посвящена клинико-молекулярным особенностям пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. При этом заболевании наибольшая выраженность повреждений тканей пародонтального комплекса выявлена у пациентов с А(II) группой крови. Для оценки состояния соединительной ткани проведено исследование наличия иммуноглобулинов А и G к трансклутаминазе и глиадину в ротовой жидкости и крови. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом с А(II) группой крови содержание антител к трансклутаминазе оказалось наибольшим, при этом в ротовой жидкости их в 2 раза больше, чем в сыворотке крови. Это свидетельствует о повышенной проницаемости гематосаливарного барьера. У этих же пациентов в ротовой



жидкости выявлены антихеликобактерные антитела. Автором установлено изменения метаболического профиля ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, свидетельствующие о нарастании резорбтивных процессов: снижение активности щелочной фосфатазы, АЛТ и АСТ, повышение активности амилазы, снижение содержания кальция и фосфора. Наглядные демонстрационными микрофотографии представлены при описании цитологической картины исследования слизистой оболочки полости рта.

Четвертая глава посвящена характеристике стоматологических нарушений и молекулярных изменений в полости рта при лейкозах. Автором установлено, что только у 10% больных с лейкозами не было проявлений стоматита. Показано, что содержание антител к трансклутаминазе и глиадину в ротовой жидкости пациентов с лейкозами зависит от степени тяжести воспалительно-деструктивного поражения слизистой оболочки полости рта и направленности лейкоза. Цитолитическое исследование у больных с лейкозами позволило оценить регенераторные возможности эпителия слизистой оболочки и микробный пейзаж полости рта.

В пятой главе диссертант представляет молекулярные и клеточные индикаторы воспалительно-деструктивных поражений у пациентов с одонтогенной флегмоной. Приводятся данные о прогностической ценности определения цитокинового профиля ротовой жидкости у пациентов с одонтогенными флегмонами при различных группах крови. Установлено, что среди этих больных преобладают лица с А(II) группой крови, о недостаточной иммунной защите которых свидетельствует наименьшее значение провоспалительных цитокинов. На третьи сутки лечения в ротовой жидкости пациентов с одонтогенной флегмоной выявлен подъем антител к трансклутаминазе. Наибольшее содержание антител к трансклутаминазе класса IgA и класса IgG выявлено у лиц с В (III) группой крови, что отражает максимальную выраженность повреждения тканей пародонта. Установлена связанная с группой крови предрасположенность к альтеративным процессам



в оральных средах. Результаты данных исследований могут быть с успехом применены в практическом здравоохранении и расширяют привычные рамки научных исследований.

В главе "Заключение" диссертант тщательно обсудила результаты собственных исследований и представила перспективы дальнейших исследований. Материал излагается последовательно, достаточно подробно и логично. Необходимо отметить обоснованность суждений автора и глубокое знание научной темы. Работа завершается 14 выводами, которые закономерно вытекают из содержания работы, соответствуют цели и задачам исследования и имеют важное научное и практическое значение. Результаты исследований и теоретические обобщения автора неоднократно докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня. Диссертационная работа Селезневой И.А. носит законченный характер, оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации. Практические рекомендации могут быть использованы в специализированных лабораториях. Результаты исследования опубликованы в 46 работах, из которых 28 в научных журналах и изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, в том числе 14 работ в базах данных Scopus и Web of Science, получено 5 патентов на изобретения. Автореферат полностью отражает содержание и основные положения диссертационной работы. Оформление автореферата соответствует современным требованиям.

**Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом**

Диссертация написана доходчиво, читается с интересом. Диссертация оформлена согласно требованиям, выполнена на высоком уровне с использованием современных биохимических методов. В целом представляет законченный труд и содержит новые сведения о



метаболических процессах в организме, которые значимы для медицины и биохимии. Проведенный анализ позволяет заключить, что представленная работа содержит достаточный объем исследований. По каждой главе и в работе в целом сделаны четкие выводы. Иллюстрации наглядны, хорошо воспринимаются и позволяют выявить динамику показателя. Представлены аргументированные практические рекомендации. Высоко оценивая работу Селезневой Инны Александровны, необходимо также высказать некоторые замечания по ее оформлению:

1. В таблицах автор не всегда указывает, в какой биологической жидкости и при какой патологии проведено исследование (таблицы 11, 34, 35).

2. В заключении автор вновь представляет данные из обзора литературы, что увеличивает эту главу.

Однако сделанные мною замечания не являются принципиальными и не умаляют значимости данной работы.

В качестве дискуссии хотелось бы задать диссертанту ряд вопросов:

1. Чем обусловлен выбор ферментов ротовой жидкости пациентов с пародонтитом? Изучали ли Вы активность этих ферментов в крови больных?

2. Была ли исключена целиакия у обследованных Вами больных?

3. В ротовой жидкости больных с пародонтитом Вы определяли содержание кальция и фосфора. Определяли ли Вы в крови содержание минеральных веществ?

4. Как изменяется проницаемость гематосаливарного барьера у лиц с лейкозами?

Заданные мною вопросы носят дискуссионный характер и подчеркивают интерес, который вызывает данная научная работа.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Таким образом, диссертационная работа Селезневой Инны Александровны



на тему: «Саливадиагностика при молекулярно-деструктивных поражениях организма» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема - выявление в ротовой жидкости новых биохимических маркеров и формирование персонализированного подхода к неинвазивной диагностике молекулярно-деструктивных поражений организма, имеющая важное значение для медицины, а именно для биохимии и соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой биологической химии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Пермский государственный медицинский  
университет имени академика Е.А. Вагнера»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор  
(03.01.04 – биохимия).

Терехина Наталья Александровна

Почтовый адрес: 614990, г.Пермь, ул. Петропавловская, д.26  
Тел.: +7 342) 217-20-20 Факс: +7 (342) 217-20-21  
e-mail: rector@psma.ru e-mail: terekhina@list.ru

Подпись профессора Терехиной Н.А. заверяю  
Начальник отдела кадров ФГБОУ ВО  
ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера  
Минздрава России



И.А. Болотова

20.01.2021



## Сведения

о Терехиной Наталье Александровне, докторе медицинских наук, профессоре, выступающей официальным оппонентом по диссертации Селезневой Инны Александровны на тему: «Саливадиагностика при молекулярно-деструктивных поражениях организма» на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет Д208.038.02, действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063 г. Краснодар, улица Митрофана Седина, дом 4, (861)2625018)

1	Фамилия, имя, отчество	Терехина Наталья Александровна
2	Ученая степень	доктор медицинских наук
3	Отрасль науки	медицинские науки
4	Научная специальность, по которой защищена диссертация	03.00.04 –биохимия
5	Ученое звание (в соответствии с аттестатом)	профессор
6	Полное наименование организации, являющейся основным местом работы на момент предоставления отзыва в диссертационный совет, структурное подразделение, должность	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой биологической химии
7	Почтовый адрес, телефон, адрес электронной почты, адрес сайта организации	614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Петропавловская, д.26; +7(342)217-2020; факс +7(342)217-20-21; e-mail: rector@psma.ru
8	Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК за последние пять лет (не более 15 публикаций), перечень согласно ГОСТ	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Орбиданс А.Г. Показатели минерального обмена и ферменты холестаза при остром панкреатите и алкогольной интоксикации //Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. - Т.61, №9.- С.603-604.</li> <li>2. Реук С.Э., Терехина Н.А. Гликопротеины слезы и ротовой жидкости при офтальмогерпесе //Вестник офтальмологии. - 2016. - Т.132, №1. - С. 31-35.</li> <li>3. Реук С.Э., Терехина Н.А. Хемилюминесцентный анализ биологических жидкостей при герпетической инфекции у детей //Уральский медицинский журнал. - 2017. - №8. - С.127-131.</li> <li>4. Зитта Д.В., Терехина Н.А., Субботин В.М. Прогнозирование несостоятельности колоректального анастомоза //Пермский медицинский журнал. – 2017. - Т.34, № 2. - С.31-36.</li> <li>5. Зитта Д.В., Терехина Н.А., Субботин В.М. Прогностическое значение определения содержания железа и меди в плазме крови больных колоректальным раком</li> </ol>



