



Министерство здравоохранения
Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования

«Тверской государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО Тверской ГМУ
Минздрава России)
Советская ул., д. 4, г. Тверь, 170100
тел.: 8-4822-32-17-79,
факс: 8-4822-34-43-09,
ОКПО 01964591
E-mail: info@tvvgmu.ru

25.04.2023 № 921
на № _____



Ректор Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения

высшего образования Минздрава РФ

доктор медицинских наук, профессор

Чичановская Леся Васильевна

«25» апреля 2023 г.

«Утверждаю»

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

О научно-практической значимости диссертационной работы Туновой Натальи Александровны на тему «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки).

Актуальность темы выполненной работы

На современном этапе развития стоматологии для восстановления частично или полностью утраченных зубов все чаще используются в качестве опоры ортопедических конструкций дентальные имплантаты. В норме после установки дентальных имплантатов в период остеоинтеграции и после ее завершения в периимплантной области отсутствуют признаки воспаления. Однако с увеличением количества устанавливаемых дентальных имплантатов возрастает и количество осложнений. По данным мультифакторного анализа патологические процессы в области установленных имплантатов на ранних или поздних этапах имплантации

выявляют у 5,1–57,0 % обследованных. Ранние осложнения возникают в первые 2–3 недели после операции, поздние – в течение нескольких лет.

Изменения, возникающие в периимплантной зоне, характеризуются воспалительными проявлениями в мягких тканях, окружающих имплантат, и потерей опорной костной ткани в более позднем периоде. Впервые термины мукозит и периимплантит, характеризующие поражения периимплантной области, были введены на рабочем совещании Европейской федерации пародонтологов в 2008 г.

Инфицирование микроорганизмами периимплантной области – один из наиболее важных факторов риска периимплантита. И, если микробные консорциумы у пациентов с пародонтитами в настоящее время хорошо известны, то состав микробиоты периимплантных зон при изолированном и сочетанном с пародонтитом течении требует дальнейшего изучения. Существует неоднозначность мнений ученых по микробиоценозу периимплантитов и пародонтитов как по составу, так и по количеству микроорганизмов.

Не изучена роль *Helicobacter pylori* в прогрессировании воспалительных заболеваний пародонта. Немногочисленные работы, посвященные теме хеликобактериоза в ассоциации с периимплантитом, свидетельствуют, с одной стороны, о взаимосвязи патологического воспалительного процесса в костной ткани челюсти, непосредственно прилегающей к зубному имплантату, с характером носительства *H. pylori* у наблюдаемых больных, с другой стороны, о влиянии носительства данного микроорганизма на рецидивирующее течение хеликобактериоза и возможность реинфицирования после эрадикационной терапии. В свете современных направлений медицины об использовании персонализированного подхода к диагностике и лечению пациентов, в том числе пациентов с хеликобактериозом, изучение значимости *H. pylori* для пациентов с периимплантитами и оценка роли микроорганизма в

прогрессировании процесса актуальны и до настоящего времени остаются открытыми.

Таким образом, проведение исследований по изучению микробного пейзажа периимплантных зон пациентов со здоровым пародонтом и с признаками пародонтита, сопутствующего периимплантиту, является крайне необходимым.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Туновой Н.А. является актуальной, так как посвящена изучению состава микробиоты периимплантных зон, а также чувствительности значимых в развитии периимплантитов микроорганизмов к антимикробным препаратам. Также следует отметить, что полученные результаты могут стать заделом создания иммунобиологических препаратов, которые могут быть использованы для профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна исследования заключается в следующем: автором впервые на основании определения прямой и обратной корреляционной зависимости между количеством микроорганизмов, с одной стороны, и степенью выраженности клинических, гигиенических и рентгенологических изменений, с другой – обоснованы культивируемые облигатные анаэробы, способствующие развитию патологических процессов в периимплантной зоне – *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Actinomyces* spp. и уменьшающие развитие воспалительных изменений при периимплантите – *Veillonella parvula*, *Bifidobacterium dentium*, *Neisseria* spp., *Lactobacillus* spp. При этом данная закономерность более выражена во всех группах лиц с пародонтитом.

Автором установлено в группах лиц с мукозитом при сопутствующем течении с пародонтитом статистически значимое повышение количества культивируемых факультативных аэробов и анаэробов – *Streptococcus* spp.,

Staphylococcus spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Rothia* spp. с наличием прямых статистически значимых корреляционных связей между количеством данных микроорганизмов и степенью выраженности клинических, гигиенических и рентгенологических изменений.

Автором впервые определено с помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени) увеличение частоты встречаемости и количества плохо культивируемых микроорганизмов – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* (*Tannerella forsythensis* или *Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola*, *Candida albicans* при прогрессировании периимплантита с преимущественным преобладанием количества микроорганизмов в периимплантных зонах у лиц с пародонтитом.

Автором впервые доказано влияние *H. pylori* на развитие патологических процессов в периимплантной области. Выявлен высокий процент лиц с имплантатами, контаминированными *H. pylori*, независимо от наличия у пациентов пародонтита. При этом среди лиц с мукозитом и прогрессирующим периимплантитом преобладают пациенты, из периимплантных зон которых выделены штаммы *H. pylori*, синтезирующие белок патогенности CagA.

Автором разработан способ получения наночастиц коллоидного серебра, основанный на пошаговой методике получения наночастиц размером 30 ± 3 нм при восстановлении и стабилизации нитрата серебра (AgNO_3) цитратом натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) при соотношении концентраций растворов $\text{AgNO}_3/\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – 1:0,75 и их объемов 5:1 (Патент на изобретение РФ № 2729991).

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Новизна результатов проведенного научного исследования укладывается в программу фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на период (2021-2030 гг.), утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 3684-р по направлению 3.4.3 Микробиология, так как проделанная работа позволяет изучить культивируемые облигатные анаэробы, факультативные аэробы и анаэробы, а также анаэробы, идентифицированные с помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени), а также определить значимость их участия в развитии периимплантита при независимом течении и с сопутствующим пародонтитом.

Тема диссертации соответствует пункту 20(в) приоритетных направлений Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642 «переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных)».

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертационной работы

Полученные автором сведения существенно дополняют знания о патогенезе формирования воспалительных процессов в периимплантной зоне, связанных с влиянием отдельных представителей микробиоты на течение периимплантита. Расширены современные представления о взаимном влиянии хеликобактериоза на течение периимплантита и наоборот, основанные на взаимосвязи, с одной стороны, патологического воспалительного процесса в костной ткани челюсти, непосредственно прилегающей к зубному имплантату, с носительством *H. pylori*, с другой стороны, о влиянии данного микроорганизма на рецидивирующее течение

хеликобактериоза и возможности реинфицирования после эрадикационной терапии.

Дополнены научные данные о возрастающей устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам, используемым в стоматологической практике, которые обосновывают решение проблемы периимплантита в виде проведения прецизионной терапии пациентов после идентификации бактериальных патогенов и анализа чувствительности их к применяемым антибактериальным препаратам, а также путем использования способов иммунокоррекции микробиоценоза. Полученные данные о высоком проценте лиц с имплантатами, контаминированными *H. pylori*, и значимости микроорганизма в развитии периимплантита обосновывают целесообразность ее эрадикации перед установкой импланта с целью улучшения результатов имплантации.

Разработанный пошаговый способ получения наночастиц коллоидного серебра (НчКС) может быть использован в различных областях медицины, в том числе для разработки на основе НчКС, обладающих антимикробными и антитоксическими свойствами, иммунобиологического препарата для профилактики и лечения периимплантитов.

Для ускорения ожидаемого противовоспалительного эффекта в качестве препаратов первой линии обосновано применение антимикробных препаратов с максимальной (более 80,0 %) активностью в отношении значимых в развитии периимплантита микроорганизмов, а именно: амоксиклава, цефидерокола, цефалексина, цефтриаксона, цефтазидима, цефтолозана, метронидазола, тейкопланина и ванкомицина.

Сформированная и депонированная на базе централизованной клинико-диагностической лаборатории Кировского областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Кировская областная клиническая больница» рабочая коллекция микроорганизмов может быть использована для научных исследований, а также для разработки

иммунобиологического препарата для профилактики и лечения периимплантита.

Подготовлено учебное пособие «Микробиология ротовой полости» (утверждено Центральным методическим советом ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, протокол № 1 от 17.02.2022 г.), которое внедрено в образовательный процесс на кафедре микробиологии и вирусологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: для обучения студентов лечебного и стоматологического факультетов по специальностям 31.05.03 «Стоматология», 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.02 «Педиатрия» по дисциплинам «Микробиология, вирусология – микробиология полости рта», «Микробиология, вирусология», «Клиническая микробиология» (акт внедрения от 17.02.2022 г.).

Подготовлены методические рекомендации «Профилактика и лечение периимплантита» (утверждены Центральным методическим советом ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, протокол № 1 от 17.02.2022 г.), которые внедрены:

– в образовательный процесс Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации для обучения ординаторов по специальностям 31.08.73 «Стоматология терапевтическая», 31.08.74 «Стоматология хирургическая», 31.08.75 «Стоматология ортопедическая», 31.08.76 «Стоматология детская» по дисциплине «Микробиология» (акт внедрения от 17.02.2022 г.);

– на практическую деятельность клиник: ООО «Ортосолю» (акт внедрения от 11.04.2022 г.); ООО «МедХим» (акт внедрения от 11.04.2022 г.).

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикаций в рецензируемых изданиях

Степень достоверности результатов диссертационного исследования подтверждается использованием достаточного количества экспериментов, современных методов исследования, соответствующих поставленным задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа. Полученные результаты согласованы с данными других исследователей.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из которых 3 статьи в рецензируемых изданиях, 3 – статьи в других изданиях, 1 тезис – в рецензируемом издании, 1 методические рекомендации, 1 монография в соавторстве, 1 учебное пособие и 1 патент на изобретение РФ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Для использования в учебном процессе, а также в практическом здравоохранении, в работе врача стоматолога, могут быть рекомендованы следующие результаты диссертационной работы:

1. *V. parvula*, *B. dentium*, *Neisseria* spp. (*N. flava*, *N. mucosa*, *N. perflava*, *N. subflava*), *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. paracasei*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*) определены к категории микроорганизмов, которые уменьшают развитие воспалительных изменений, а *Bacteroides* spp. (*B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*), *Prevotella* spp. (*P. buccalis*, *P. nigrescens*), *Peptostreptococcus* spp. (*P. anaerobius*, *P. stomatis*), *Actinomyces* spp. (*A. cardiffensis*, *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. oris*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*) – к представителям микробной флоры, которые оказывают неблагоприятное влияние на клинко-рентгенологический статус периимплантных зон.

2. У лиц с периимплантитами при сопутствующем течении с пародонтитом определены в достоверно значимом количестве ($p < 0,05$) *Streptococcus* spp. (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*,

S. pneumoniae, *S. pyogenes*, *S. uberis*, *S. vestibularis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*), *Staphylococcus* spp. (*S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*), *P. aeruginosa*, *Rothia* spp. (*R. dentocariosa*, *R. aerea*, *R. mucilaginosa*).

3. С помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени) определено увеличение частоты встречаемости и количества *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *C. albicans* с преимущественным преобладанием количества микроорганизмов в периимплантных зонах у лиц с пародонтитом.

4. *H. pylori* идентифицирована у 48,03 % лиц с периимплантитом, среди них 18,11 % являются носителями патогенных штаммов, которые синтезируют белок патогенности CagA. При этом доля лиц, у которых выявлены штаммы *H. pylori*, способные синтезировать белок CagA, достоверно выше при мукозите и прогрессирующем периимплантите независимо от пародонтита ($<0,001$).

5. У лиц с периимплантитом, протекающим без пародонтита, оценена очень высокая значимость для *T. forsythia* ($r=0,823$); средняя – для *Peptostreptococcus* spp. ($r=0,799$), *P. gingivalis* ($r=0,745$). У лиц с периимплантитом, протекающим совместно с пародонтитом, очень высокая значимость определена для *Rothia* spp. ($r=0,896$), высокая – для *T. denticola* ($r=0,750$), *Actinomyces* spp. ($r=0,665$), *Bacteroides* spp. ($r=0,633$); средняя – для *S. aureus* ($r=0,555$), *Prevotella* spp. ($r=0,492$), *Streptococcus* spp. ($r=0,465$), *P. aeruginosa* ($r=0,449$), *A. actinomycetemcomitans* ($r=0,441$); низкая – для *C. albicans* ($r=0,354$). У лиц с периимплантитом как без, так и с пародонтитом одинаково высокая значимость выявлена для *Staphylococcus* spp. $r=0,775$ и $r=0,701$, для *H. pylori* – $r=0,467$ и $r=0,536$ соответственно.

6. Чувствительность значимых в развитии периимплантита микроорганизмов к амоксиклаву была выявлена в 85,8 %, к цефидероколу – в 81,0 %, к цефалексину – в 90,6 %, к цефтриаксону – в 91,3 %, к цефтазидиму

– 80,7 %, цефтолозану – 81,6 %, к метронидазолу – в 81,4 %, к тейкопланину – в 88,0 % и к ванкомицину – в 91,9 % случаев.

7. Полученные данные о высоком проценте лиц с имплантатами, контаминированными *H. pylori*, и о значимости этого микроорганизма в развитии периимплантита обосновывают целесообразность эрадикационной терапии перед установкой имплантата с целью улучшения результатов имплантации.

8. Обоснованные по результатам работы антимикробные препараты, обладающие максимальной активностью в отношении значимых в развитии периимплантита микроорганизмов, а именно, амоксилав, цефидерокол, цефалексин, цефтриаксон, цефтазидим, цефтолозан, метронидазол, тейкопланин и ванкомицин, рекомендовано применять у пациентов с периимплантитами в качестве препаратов выбора для ускорения противовоспалительного эффекта.

Соответствие специальности

Тема диссертации, цели, задачи, основные положения и выводы, сформированные автором, полностью соответствуют научной специальности 1.5.11 – Микробиология (медицинские науки).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 156 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 21 рисунками. Диссертация состоит из следующих структурных элементов введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списки сокращений, списка литературы, включающего 152 источника, из которых 107 отечественных и 45 зарубежных.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личное участие автора заключается в постановке цели, определению путей решения задач в рамках диссертационной работы. Автор лично провела анализ научной литературы по теме диссертации; разработала

дизайн исследования; проводила отбор пациентов для исследования; осуществляла клинический осмотр и оценку индексов гигиены у пациентов; проводила все этапы экспериментального исследования по выделению и идентификации культур. Результаты, представленные в диссертации, получены лично автором либо при его непосредственном участии в экспериментальной работе. Диссертант лично провел анализ и систематизацию результатов исследования, сделав обоснованные выводы.

По результатам диссертационной работы Тунева Наталья Александровна подготовила к публикации статьи, участвовала с докладами на научных конференциях, лично участвовала в оформлении апробации результатов исследования.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Представленный в диссертационной работе материал изложен последовательно, логично и аргументировано. Обзор литературы отражает осведомленность автора об изучаемой проблеме. Каждая глава заканчивается грамотно сформулированным заключением.

Сильной стороной работы является большая статистическая обработка полученных клинико-микробиологических данных, по результатам которых определен уровень значимости микроорганизмов в развитии и прогрессировании периимплантита при независимом течении и с сопутствующим пародонтитом в зависимости от уровня корреляции между количеством микроорганизмов и клинико-рентгенологическими изменениями, выраженными в баллах, из которых были сформированы отдельные цветные комплексы.

В качестве дискуссионного вопроса к диссертанту предлагаю следующий: изучали ли вы антибактериальную активность *in vitro* ваших наночастиц коллоидного серебра, полученных цитратным методом?

К диссертационной работе имеется ряд замечаний, не влияющих на понимание сути полученных результатов. Хотелось бы видеть во всей работе

правильное и в настоящее время современное слово «микробиота», а не «микрофлора» или «микробная флора». Заключение по данной работе написано очень профессионально и может быть представлено в виде обзорной статьи, интересной для многих специалистов.

В целом диссертационная работа Туновой Н.А. имеет законченный характер и заслуживает высокой оценки.


Заключение

Таким образом, диссертационная работа Туновой Наталья Александровны на тему «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11 – Микробиология, выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Богачевой Натальи Викторовны, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – обоснование значимых микроорганизмов в развитии периимплантитов для разработки иммунобиологического препарата направленного действия, имеющей существенное значение для медицинских наук. Диссертационная работа Туновой Наталья Александровны на тему «Диагностически значимые микробиологические показатели в развитии периимплантитов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности шифр – 1.5.11 Микробиология (медицинские науки), по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 26.05.2020 N 751, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N101, от 18.03.2023 N415), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Тунева Наталья Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности шифр – 1.5.11 Микробиология (медицинские науки).

Отзыв заслушан и одобрен на Ученом совете ФГБОУ ВО Тверской ГМУ МЗ РФ (протокол заседания № 4 от 18.04.2023 г.).

Заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России). Адрес: 170100, Российская Федерация, Тверская область, г. Тверь, улица Советская, дом 4; тел.: +7 (4822)32-17-79, e-mail: info@tvgmu.ru

Доктор медицинских наук, профессор  Червинец Юлия Вячеславовна

«25» апреля 2023 г.

Подпись Червинец Юлии Вячеславовны заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России). Адрес: 170100, Российская Федерация, Тверская область, г. Тверь, улица Советская, дом 4; тел.: +7 (4822)32-17-79, e-mail: info@tvgmu.ru

Доктор медицинских наук  Шестакова Валерия Геннадьевна

«25» апреля 2023 г.

