

ВІДГУК

завідувача лабораторно-експериментальним відділом ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України» доктора медичних наук, Джораєвої Світлани Кар'ягдівни на дисертаційну роботу Грузевського Олександра Анатолійовича: «Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейро-гормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

Актуальність теми дисертаційної роботи

Захворювання сечостатевої системи, спричинені патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, що призводять до дисбіозу сечостатевої системи, залишаються нагальною проблемою сучасної медичної мікробіології, дерматовенерології, гінекології та урології. Значною мірою вони пов'язані з певними труднощами діагностики, резистентністю до лікування, надзвичайно високою поширеністю та можливістю розвитку тяжких ускладнень, особливо тих, що впливають на репродуктивну функцію людини. Факультативно-анаеробні та облигатно-анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми, як представники резидентної мікробіоти урогенітального тракту, при дії певних екзо- і ендогенних факторів можуть виявляти патогенні властивості та входити до складу асоціацій мікроорганізмів, що спричиняють інфекційно-запальний процес. Бактеріальний вагіноз зумовлює постійне накопичення і збереження високих концентрацій умовно-патогенних мікроорганізмів; йому належить значна роль у виникненні і розвитку різноманітних акушерсько-гінекологічних патологічних станів. Показано прямий зв'язок між бактеріальним вагінозом і несприятливим перебігом вагітності (мимовільні викидні, передчасні пологи) та післяродового періоду (підвищення частоти ендометриту збільшується у три

й більше разів). Крім того, на фоні бактеріального вагінозу, який призводить до тканинної гіпоксії і високих показників рН вагінального секрету, різко збільшується ризик зараження ППШ, а також має місце активація латентної вірусної інфекції, що особливо небезпечна під час вагітності. Встановлено епідемічний зв'язок бактеріального вагінозу з неопластичними процесами шийки матки.

Актуальність даних досліджень обумовили мету дисертаційної роботи: підвищення ефективності діагностики та прогнозування розвитку бактеріального вагінозу шляхом визначення впливу нейро-гормональної регуляції, імунного статусу та місцевих факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви.

Дисертаційна робота була виконана на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Одеського національного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи «Мультиплексне визначення впливу загальних та місцевих регулюючих факторів на мікробіоценоз піхви» (№ держреєстрації 0115U006643).

Завершеність дисертаційного дослідження

Для досягнення поставленої мети, а саме підвищення ефективності діагностики і точності прогнозування розвитку бактеріального вагінозу шляхом визначення впливу нейрогуморальної регуляції, імунного статусу та місцевих факторів колонізаційної резистентності на вагінальний мікробіоценоз, дисертантом були визначені завдання дисертаційного дослідження, що включали вивчення якісного і кількісного складу мікробіоценозу піхви в залежності від ступеню дисбіозу та з урахуванням стану клітинного, гуморального ланок імунітету та нейро-гормональних регуляторних систем організму; побудування логістичних моделей регресії з оцінкою ризику розвитку та ступеню тяжкості дисбіозу за показником нормобіоти та індексом умовно-патогенної мікрофлори з наступним визначенням показників для прогнозування як ймовірності розвитку бактеріального вагінозу (імунорегуляторний індекс), так і ступеня тяжкості

дисбіозу за показниками ПНБ (показник нормобіоти) та ІУПМ (індекс умовно-патогенної мікрофлори).

Як свідчать матеріали дисертації, здобувачем виконано всі поставлені завдання з системним аналізом тематичної наукової літератури і профільної медичної документації, використанням сучасних і адекватних, поставленим завданням, методів досліджень (інформаційно-аналітичних, мікробіологічних, імунологічних, фізико-хімічних, молекулярно-генетичних, математико-статистичних), достатнім обсягом проведених експериментів та повноцінною статистичною обробкою їх результатів.

Вперше визначено та конкретизовано якісні та кількісні характеристики нормоценозу та бактеріального дисбіозу та комплексно охарактеризовані зміни у місцевій колоніальній резистентності піхви.

Доведено, що гуморальна ланка місцевої колоніальної резистентності активувалась при дисбіозі I ступеня та пригнічувалася на тлі БВ, при цьому низькі рівні у вагінальному секреті секреторного IgA та лізоциму вказували на глибокий локальний неспецифічний імунодефіцит, а різке зниження окремих показників фагоцитозу, імунних комплексів та компонентів комплементу C3 і C4 при БВ вказувало на розвиток комбінованого локального імунодефіциту.

Вперше показані закономірності функціонування імунної системи при БВ. Показано, що по мірі поглиблення дисбіозу, на тлі загального лімфоцитозу мало місце поступове зменшення у крові вмісту CD3- та CD4-лімфоцитів, що вказувало на прогресування Т-клітинного імунодефіциту. Виявлена залежність ступеня прогресування дисбіозу від активації НК-клітин (CD16) та В-лімфоцитів (CD22). При цьому показано, що рівень цитокінів (1 β (IL1 β), 2 (IL2), 4 (IL4), 6 (IL6), 8 (IL8), 10 (IL10), фактора некрозу пухлин α (TNF α) та γ -інтерферону (γ -INF) у крові збільшувався з поглибленням ступеня дисбіозу, та сягав максимуму при БВ. Загальний аналіз зв'язку показників імунної системи у крові виявив розвиток

системного комбінованого імунодефіциту та вихід найбільш патогенних мікроорганізмів з-під контролю імунної системи

Вперше дана характеристика порушень нейрогормональної регуляції при БВ, встановлено, що реакція гормональних систем при дисбіозі характеризувалася розвитком первинного гіпергонадотропного гіпогонадизму з гіпоестрогенією та гіперанрогенією; «дистрес-синдрому» (гіпокортицизм та гіперпролактинемія) та функціонального дистіреозу, а рівні КР, ФСГ та Е2 відзеркалювали ступінь дисбіозу.

Одержано нові дані щодо взаємовпливу показників мікробного біоценозу, місцевої колоніальної резистентності, імунної системи та системи нейрогормональної регуляції, які відображали існування єдиної дизрегуляторної патологічної гормонально-імунної системи, що формується в умовах вагінального дисбіозу та призводить до розвитку БВ.

Наукова новизна підтверджена патентом на корисну модель «Спосіб визначення ступеня впливу місцеві факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви» .

Дисертаційна робота написана за загальноприйнятим для таких робіт планом, викладена на 340 сторінках друкованого тексту, містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, сім розділів власних досліджень з узагальненням їх результатів, висновки, практичні рекомендації та список використаних першоджерел (містить 296 найменувань, з яких 161 латиницею, 135 кирилицею). Дисертаційна робота містить 50 таблиць, 47 рисунків, 4 додатки.

Вступ містить обґрунтування актуальності теми дисертаційного дослідження. У вступі лаконічно і чітко визначено мету дослідження, досягнення якої дозволяє вирішити важливу наукову проблему. Завдання дослідження сформульовані правильно, їх виконання дозволяє досягти мети. Вичерпно викладено наукову новизну і практичну значимість роботи, особистий внесок автора у виконання досліджень.

Розділ 1. Огляд літератури. У розділі висвітлені сучасні погляди на проблему формування бактеріальних вагінальних дисбіозів, роль окремих представників мікробіоти тіла людини в умовах нормоценозу та дисбіозу. Визначені клініко-лабораторні критерії встановлення БВ та підкреслені локальні та системні фактори, що сприяють його розвитку. Подано інформацію про стан імунної системи та неспецифічних факторів захисту у жінок з БВ. Представлено огляд сучасних діагностичних підходів до проблеми вагінальних дисбіозів та зосереджено увагу на перспективах розроблення нових діагностичних підступів.

Розділ 2. Матеріали та методи досліджень. У цьому розділі автор надає відомості про контингент обстежених та методи, які були використані при виконанні завдань роботи. Методи адекватні та досить інформативні. Особливу увагу автором приділено логістичним моделям регресії оцінки ризику розвитку бактеріального вагінозу та методам визначення ступеню тяжкості дисбіозу з урахуванням показників імунної системи та нейрогормональної регуляції

Розділ 3. Результати комплексного бактеріологічного дослідження вмісту цервікального каналу та склепіння піхви при бактеріальному вагінозі. Автором проведено вивчення стану мікробіоценозу піхви в залежності від віку та ступеню тяжкості дисбіозу у порівнянні з показниками нормоценозу. За результатами проведеного дослідження наведено дані щодо особливостей складу та рівнів вмісту аеробних та анаеробних мікроорганізмів в залежності від віку та ступеню вираженості дисбіозу. Дисертантом встановлено, що для нормоценозу характерними є постійна наявність з кількісним переважанням лактобактерій з невеликим вмістом ентеробактерій, стафілококів, коринебактерій, *Ureaplasma urealiticum+parvum* і грибів роду *Candida*. Серед факультативних анаеробів кількісно переважали мікроорганізми груп *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Eubacterium* spp., а також *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas* spp. у кількості, що не перевищувала 2,237 lg

ГЕ / зразок. Кількість маркерного для бактеріального вагінозу збудника - *Atopobium vaginae* не перевищувала 0,735 Ig GE/зразок за відсутністю представників родів *Sneathia*, *Leptotrihia*, *Fusobacterium*, а також *Mycoplasma hominis+genitalium*. Автором встановлені відмінності нормоценозу від дисбіозу I ступеня, що проявилися зниженням ЗБМ, кількості ЛБ на тлі збільшення частоти та вмісту представників умовно патогенної мікрофлори. На відміну від нормоценозу у структурі мікробіоценозу виявлено представників родів *Sneathia* spp., *Leptotrihia* spp., *Fusobacterium* spp. та *Mycoplasma hominis+genitalium*. При дисбіозі II ступеня (IУПМ>-1 Ig GE/зразок) ЗБМ і кількість ЛБ було знижено ще більшою мірою на тлі значного збільшення частоти та абсолютної кількості стрептококів та облигатних анаеробів с формуванням вираженого анаеробного дисбіозу.

Розділ 4. Вплив місцевих чинників на колонізаційну резистентність. У розділі наведено дані щодо визначення імунних чинників колонізаційної резистентності піхви (вміст імуноглобулінів А, М, G, секреторного імуноглобуліну А і лізоциму), а також показників фагоцитарної активності лейкоцитів, вмісту імунних комплексів і компонентів комплементу С3 і С4 у вагінальному секреті та маркерів специфічної гуморальної відповіді. Автором встановлено, що реакція імунної системи у процесі розвитку БВ еволюціонувала від неспецифічної резистентності до індукованих цитокінами реакцій специфічного гуморального імунітету з формуванням локального вагінального імунодефіциту, який, власне, і був причиною його розвитку.

Розділ 5. Вплив системних імунних показників на колонізаційну резистентність піхви. Проведені дисертантом дослідження демонструють, що по мірі поглиблення дисбіозу, на тлі загального лімфоцитозу мало місце поступове зменшення у крові вмісту CD3- та CD4-лімфоцитів, що вказувало на прогресування Т-клітинного імунодефіциту. Виявлена залежність ступеня прогресування дисбіозу від активації NK-клітин (CD16) та В-лімфоцитів (CD22). При цьому показано, що рівень цитокінів (1 β (IL1 β), 2 (IL2), 4 (IL4),

6 (IL6), 8 (IL8), 10 (IL10), фактора некрозу пухлин α (TNF α) та γ -інтерферону (γ -INF) у крові збільшувався з поглибленням ступеня дисбіозу, та сягав максимуму при БВ. Загальний аналіз зв'язку показників імунної системи у крові виявив розвиток системного комбінованого імунодефіциту та вихід найбільш патогенних мікроорганізмів з-під контролю імунної системи

Розділ 6. Вплив показників системи гормональної регуляції. Метою досліджень, викладених в матеріалах цього розділу, було вивчення особливостей гормональної регуляції у жінок з ознаками дисбіозу піхви. Автором встановлено, що реакція гормональних систем при дисбіозі характеризувалася розвитком первинного гіпергонадотропного гіпогонадізму з гіпоестрогенією та гіперандрогенією; «дистрес-синдрому» (гіпокортицизм та гіперпролактинемія) та функціонального дистіреозу з кореляцією зі ступенем дисбіозу рівнів у КР, ФСГ та Е2, тобто, напруженість глюкокортикоїдної регуляції та ступінь порушення гормональної функції яєчників (первинний гіпогонадізм та гіперандрогенемія) були визначальними факторами для прогресування дисбіозу.

Розділ 7 Прогнозування ризику виникнення та ступеню тяжкості дисбіозу та бактеріального вагінозу (за показником нормобіоти та індексу умовно-патогенної мікрофлори). У даному розділі автор наводить логістичні моделі регресії, які оцінюють ризик розвитку дисбіозу та ступінь його тяжкості за показником нормобіоти та індексом умовно-патогенної мікрофлори. Дисертантом запропоновано використання факторних ознак поряд з побудовою лінійних нейромережових моделей за ПНБ (факторні ознаки: рівні у вагінальному секреті компоненту комплементу С4 та γ -INF, вміст у крові ЦІК та TNF α) та за показником ІУПІМ (рівні у вагінальному секреті секреторного IgA, лізоциму, γ INF і TGF1 β , вміст у крові компоненту комплементу С4 і IL8.) для визначення ступеня тяжкості дисбіозу та прогнозування його перебігу

Розділ 8. Узагальнення та аналіз результатів. Автор досить чітко узагальнює результати проведених досліджень, підводячи підсумок

представлених у роботі результатів дослідження, обґрунтовує найважливіші факти і положення та робить відповідні змістовні висновки.

Зауваження, пропозиції та запитання до змісту дисертаційної роботи

Під час рецензування матеріалів дисертаційної роботи автору були зроблені певні зауваження щодо оформлення фактичного матеріалу (таблиці та інше):

1. В тексті роботи зустрічаються окремі термінологічні та фразеологічні неточності, які не впливають на в цілому позитивну оцінку змісту дисертаційної роботи.

2. У розділі 2 бажано викласти імунологічні та молекулярно-генетичні методи дослідження у більш стислій формі, скоротивши загальновідомі дані.

3. Дубляжу табличних цифрових даних у діаграмах у розділах 5, 6 слід було уникнути.

4. Висновки (6, 7) дисертаційної роботи бажано бачити викладеними більш лаконічно.

Підсумовуючи викладене вище слід зазначити, що зроблені зауваження стосуються форми викладення матеріалу і ніяк не заперечують новизни і науково-практичної значимості роботи та не впливають на загальну позитивну оцінку роботи. В порядку наукової дискусії бажано одержати відповіді на наступне запитання:

Запитання до дискусії:

1. Якому методу оцінки стану мікробіоти піхви у жінок Ви надаєте перевагу?
2. Які мікроорганізми у структурі бактеріального вагінозу є маркерними?
3. Чи доцільно, на Вашу думку, проводити визначення стану мікробної флори уретри статевих партнерів жінок з бактеріальним вагінозом?

Відповідність напрямку досліджень і змісту дисертації галузі науки, формулі спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради

За напрямком досліджень і змістом дисертаційна робота Грузевського Олександра Анатолійовича «Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейро-гормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу», відповідає галузі науки – охорона здоров'я, паспорту (формулі) спеціальності медицина, 03.00.07 – мікробіологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України».

Повнота висвітлення результатів дисертаційного дослідження в опублікованих працях (наукових фахових виданнях) та авторефераті

За матеріалами дисертації 48 наукових праць (26 – одноосібно), з них 26 статей у наукових фахових виданнях (10 – у закордонних наукових фахових виданнях), 1 патент на корисну модель, 2 інформаційних листа, 19 тез у матеріалах науково-практичних конференцій, в тому числі іноземних. Основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи неодноразово доповідалися й обговорювалися на багатьох науково-практичних конференціях, з'їздах, конгресах, семінарах, в тому числі й з міжнародною участю.

Вказане вище, дозволяє визначити, що опубліковані праці в достатній мірі розкривають основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації дисертаційної роботи.

Висновок

Докторська дисертаційна робота Грузевського Олександра Анатолійовича «Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейро-гормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу» є закінченим науковим дослідженням, у якому вирішена важлива наукова проблема – підвищення ефективності діагностики і точності прогнозування розвитку бактеріального вагінозу шляхом визначення впливу нейрогуморальної регуляції, імунного

статусу та місцевих факторів колонізаційної резистентності на вагінальний мікробіоценоз.

Дисертаційна робота Грузевського Олександра Анатолійовича за обсягом проведених досліджень, інформативністю використаних методів, актуальністю та методичним рівнем, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 із змінами та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія.

Завідувач лабораторно-експериментальним
відділом ДУ «Інститут дерматології
та венерології Національної академії
медичних наук України»,
доктор медичних наук,



С.К.Джораєва

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
"ІНСТИТУТ ДЕРМАТОЛОГІЇ ТА ВЕНЕРОЛОГІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"
З ОРИГІНАЛОМ ЗГІДНО
ісп. Горотицька (підпис)
20__

