

ВІДГУК

офіційного опонента професора кафедри клінічної імунології і мікробіології Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України, доктора медичних наук, професора Савінової О.М. на дисертаційну роботу Грузевського Олександра Анатолійовича «Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейрогормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу».

АКТУАЛЬНІСТЬ

Сучасною проблемою нашого століття залишається проблема запальних захворювань статевих органів у жінок, які займають головне місце в структурі гінекологічної патології.

Піхва з її мікрофлорою являє єдину екосистему, в якій вагінальне середовище контролює мікрофлору, а мікрофлора, в свою чергу, чинить різні дії на піхвове середовище.

Порушення вагінальної мікроекосистеми є єдиним видом дисбіозу, який включено в МКХ-10 під назвою «бактеріальний вагіноз» і являється поліетіологічним захворюванням.

Використання терміну «бактеріальний вагіноз» обумовлено тим, що при запальних захворювань статевих органів у жінок спостерігається підвищення умовно-патогенної мікрофлори і зниження лактобактерій в піхві, які грають роль захисного бар'єру при проникненні зовні патогенних мікроорганізмів.

Біологічна структура збудників інфекційних процесів постійно змінюється, що пов'язано як з еволюцією бактерій, так і з залученням у патологічний процес умовно-патогенних мікроорганізмів, яким притаманні патогенні властивості (капсулоутворення, гемолітичні якості, резистентність до лікарських препаратів і інше), котрі обумовлені включенням в геном бактерій.

Бактеріальний вагіноз (БВ) – це мультисистемне захворювання, при якому в запальний процес статевих органів жінки включаються всі системи

організму – гормональна, нейроендокринна, імунна, центральна і вегетативна нервова системи та інші.

Даних, які б висвітлювали питання взаємодії дисбіотичних зсувів при БВ з порушенням різних систем організму, в першу чергу нейроендокринної, імунної, гормональної, у вітчизняній і зарубіжній літературі дуже мало.

Тому актуальною і важливою є дисертаційна робота Грузевського О.А, в якій він поставив за мету визначити вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності піхви, імунного статусу, стану нейрогуморальної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу.

ЗВ'ЯЗОК РОБОТИ З НАУКОВИМИ ПРОГРАМАМИ, ПЛАНАМИ, ТЕМАМИ

Робота виконана на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Одеського національного медичного університету та є фрагментом науково-дослідних робіт «Мультиплексне визначення впливу загальних та місцевих регулюючих факторів на мікробіоценоз піхви» (№ державної реєстрації 0115U006643, 2016-2020р.р.), в яких дисертант був співвиконавцем. Тема і план дисертації затверджено вченою радою Одеського національного медичного університету МОЗ України (протокол №7 від 14.04.2016 р.).

ОСОБИСТИЙ ВНЕСОК ЗДОБУВАЧА

Дисертантом самостійно здійснено вибір теми дослідження, мета і завдання. Він сформулював наукову концепцію, провів інформаційний та науково-патентний пошук, аналіз наукової літератури з досліджуваної проблеми та узагальнив дані літератури з обраного напрямку.

Молекулярно-генетичні дослідження було проведено автором у відділі молекулярно-генетичних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Донецького медичного університету в 2012-2014р.р.

Дисертантом особисто отримано, проаналізовано, узагальнено результати мікроскопічних, біохімічних, імунологічних досліджень,

визначено основні положення дисертації, надано практичні рекомендації та сформульовані висновки.

Математичні моделі розвитку БВ були розроблені Грузевським О.А. на кафедрі медичної і біологічної фізики Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

НАУКОВА НОВИЗНА

1. Вперше представлені характеристики якісного і кількісного складу мікрофлори піхви при нормоценозі і різних стадіях дисбіотичного процесу при бактеріальному вагінозі.
2. Вперше комплексно охарактеризовані зміни у місцевій колонізаційній резистентності піхви. Доведено, що гуморальна ланка місцевої колонізаційної резистентності активізується при дисбіозі 1 ступеню та призупиняється на тлі БВ, коли виявляються низькі рівні в вагінальному секреті секреторного IgA та лізоциму. Це вказує на глибокий локальний неспецифічний імунодефіцит. А різке зниження ФАЛ, індексу ФАЛ, імунних комплексів і компонентів комплементу C_3 і C_4 вказує на розвиток комбінованого локального імунодефіциту.
3. Автором вперше доведено, що в умовах вагінального дисбіозу формується єдина патологічна гормонально-імуна система, показниками якої є дані мікробного біоценозу, місцевої колонізаційної резистентності, імунної системи та системи нейрогуморальної регуляції.
4. Вперше розроблені методики визначення ступеня впливу місцевих факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви, а також моделі прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за показником нормобіоти і дисбіозу за показником індексу умовно-патогенної мікрофлори.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дисертант вперше розробив логістичні моделі регресії, які оцінюють ризик розвитку дисбіозу та ступінь його тяжкості за показником нормобіоти

та індексом УПМ, які широко можуть бути використані лікарями для діагностики, лікування та прогнозування розвитку бактеріального вагінозу.

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Основні положення дисертації були представлені та обговорені на 16 міжнародних науково-практичних конференціях в Україні та 4 за кордоном (в Польщі, Канаді, Греції).

СТУПІНЬ ДОСТОВІРНОСТІ ТА ОБГРУНТОВАНOSTІ ПОЛОЖЕНЬ, НАУКОВИХ ВИСНОВКІВ ТА РЕКОМЕНДАЦІЙ

При виконанні роботи дисертантом використані сучасні і адекватні методи дослідження та представлена достатня кількість експериментальних даних, статистична обробка матеріалу була проведена на високому науково-методичному рівні.

ПУБЛІКАЦІЇ

За результатами дисертаційної роботи опубліковано 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.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ

Дисертаційна робота 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

В огляді літератури висвітлені сучасні погляди на проблему формування бактеріальних вагінальних дисбіозів, роль окремих представників мікробіоти тіла людини в умовах нормоценозу та дисбіозу. Наголошено на важливому значенні представників нормо біоти, особливо *Lactobacillus spp.* в

забезпеченні локального протиінфекційного захисту та протизапальних ефектів.

В другому розділі представлені матеріали та методи дослідження. В рамках відбору пацієток для даного дослідження були обстежені жінки у віці від 16 до 64 років, які звернулися до гінеколога для профілактичного огляду або з приводу скарг на дискомфорт в області геніталій різного ступеня прояву.

Дизайн досліджень був розроблений у відповідності до мети і завдань дисертаційної роботи та передбачав декілька етапів.

1. Отримання матеріалу і формування груп обстеження.

До основного етапу дослідження були включені 298 жінок, у яких не було виявлено патогенних мікроорганізмів. У всіх жінок брали матеріал у вигляді зіскрібка. Разом з тим, частину матеріалу поміщали на предметне скло для наступного фарбування по Граму і світової мікроскопії. Лабораторні дослідження клітинного імунітету і вимір рН вагінальної рідини виконували відразу після отримання секрету. ПЛР-дослідження проводили на виявлення і кількісне визначення нормобіоти. Грунтуючись на результатах ПЛР-дослідженнях та клініко-лабораторних тестах стану біоцінозу піхви, були виділені три групи пацієток. До першої групи ввійшли 53 жінки у віці від 18 до 52 років з нормоцінозом, до другої - 23 пацієтки у віці від 26 до 45 років, в анамнезі яких були від 1 до 3 пологів, до третьої-11 пацієток у віці від 46 років і більше, які перебували в менопаузному періоді з відсутністю менструацій протягом останнього року.

2. Молекулярно-генетичні дослідження проводили методом ПЛР. ДНК виділяли за допомогою набору реактивів «Проба-ГС». Імуноферментним аналізом визначено вміст імуноглобулінів А, М, G в сироватці крові і вагінальній рідині з використанням тест- системи «IgA,M,G-ІФА». Також цим методом виявлений вміст цитокінів, лізоциму, гормонів (лютеотропного, фолікулостимулюючого, пролактину) в сироватці крові.

Чітко визначені імунологічними методами Т-і В-лімфоцити в крові і вагінальній рідині, а імунотурбідиметричним методом автор виявляв вміст компонентів комплементу.

В розділі №3 представлені результати комплексного бактеріологічного дослідження вмісту цервікального каналу та склепіння піхви при бактеріальному вагінозі. Автор підкреслює, що сучасні уявлення про склад біоти піхви ґрунтуються, насамперед, на результатах мікроскопічного та мікробіологічного дослідження вагінального секрету, які мають відомі недоліки, що обмежують об'єктивність і вірогідність даних про всіх учасників біоцінозу. У зв'язку з цим останніми роками ідентифікація мікроорганізмів будується на молекулярно-генетичному аналізі-ПЛР. Здобувачем представлені результати кількісної оцінки показників мікробіоти, відповідних стану нормоценозу.

У розділі 3 підрозділі 2 визначений кількісний та якісний склад мікрофлори піхви при дисбіозі. Проведене дослідження показало, що з віком і в міру поглиблення дисбіозу знижувалася ЗБМ і заселеність вагінального середовища ЛБ.

В 4 розділі наведені дані впливу місцевих чинників на колонізаційну резистентність вагінальної рідини. Колонізаційна резистентність вагінального секрету, яка включає захисні агенти, що виробляються місцевою лімфоїдною тканиною (IgA, IgM, IgG, лізоцим, α-лізини, комплемент, секреторний IgA тощо), бактерицидні сполуки (водню пероксид, молочна кислота), клітини імунної системи (лейкоцити, макрофаги, Т-і В-лімфоцити).

У розділі 4 підрозділі 2 представлений зв'язок видових показників мікробного біоценозу з чинниками місцевої колоніальної резистентності.

У 5 розділі надані результати вивчення показників функціонування імунної системи у пацієнток за умов наявності дисбіозу піхви різного ступеню. На підставі узагальнення таких даних та використання

математичних методів аналізу висвітлено вплив системних імунних показників на стан мікробіоти та колонізаційну резистентність піхви.

В 6 розділі представлені дані вивчення показників гормональної регуляції у пацієток за умов наявності нормоценозу, дисбіозу різного ступеню та бактеріального вагінозу. На підставі узагальнення таких даних та використання математичних методів аналізу висвітлено вплив гормональних чинників на стан мікробіоти та колонізаційну резистентність піхви.

В розділі 7 за показниками нормобіоти та індексу умовно-патогенної мікрофлори були розроблені моделі прогнозування ризику виникнення та ступеню тяжкості дисбіозу та бактеріального вагінозу.

Таким чином, в дисертаційній роботі Грузевського О.А. в повній мірі висвітлені всі дані, які стосуються вирішення основних завдань і мети дослідження. Вказано на тісний зв'язок між місцевими факторами колонізаційної резистентності піхви та нейрогуморальною регуляцією, імунним статусом хворих на бактеріальний вагіноз. У процесі рецензування виникли деякі запитання:

1. Судячи з Ваших даних, видовий склад вагінальної мікробіоти змінюється при розвитку вагінальних дисбіозів, особисто бактеріального вагінозу. Така ситуація звісно потребує корекції . Які рекомендації Ви надали би практикуючим лікарям для цієї корекції?
2. Чи використовували практикуючі лікарі результати дисертаційних досліджень в своїй діяльності для покращення діагностики вагінальних дисбіозів?
3. Чи призначали лікарі лабораторного центру МОЗ України в Одеській області, де проводилось впровадження результатів наукової роботи, для лікування бактеріального вагінозу в залежності від стадії дисбіозу пробіотичні препарати?

ВИСНОВОК ЩОДО ВІДПОВІДНОСТІ ДИСЕРТАЦІЇ ВСТАНОВЛЕНИМ ВИМОГАМ

Дисертаційна робота Грузевського Олександра Анатолійовича «Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейрогормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу» є самостійною завершеною науковою працею виконаною на високому методичному рівні, в якій на підставі проведених досліджень сформульовані положення, які у сукупності вирішують актуальну науково-практичну проблему галузі охорони здоров'я-підвищення ефективності прогнозування та діагностики вагінального дисбіозу.

За актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною і практичною значимістю отриманих результатів, високим рівнем статистичної обробки дисертація Грузевського О.А. відповідає вимогам щодо докторських дисертацій, які визначені у Постанові Кабінету Міністрів України «Про порядок присудження наукових ступенів» від 24 липня 2013 року №567 із внесеними змінами та у Наказі МОН України № 40 від 12.01.2017р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07-мікробіологія.

Офіційний опонент:

**Професор кафедри клінічної імунології
і мікробіології Харківської медичної
академії післядипломної
освіти МОЗ України
д. мед. н., професор**



Савінової О.М.

Підпис _____ засвідчує
Вчений секретар

