

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Горчакова Дмитрия Александровича на тему: «Патогенетические особенности уrogenитального трихомониаза в гендерном аспекте», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 — патологическая физиология

Актуальность исследования. В последние десятилетия уrogenитальный трихомониаз занимает первое ранговое место в структуре заболеваний, передаваемых половым путем (ИППП), составляя в среднем более 40% от всех ИППП зарегистрированных на территории России, что свидетельствует о высокой социальной значимости этой проблемы. Необходимо учитывать и тот факт, что данная протоинвазия за счет снижения естественной резистентности организма заболевшего способна облегчает процесс инфицирования другими микроорганизмами, передающимися половым путем, в том числе ВИЧ, провоцировать преждевременные роды и рождение детей с низкой массой тела.

В настоящее время большинство исследователей склоняются к мнению, что регистрируемый уровень заболеваемости трихомонозом занижен и не соответствует фактическому, а характеристики его «современной» эпидемиологии изучены недостаточно. Одной из причин, усугубляющих сложившуюся ситуацию, является несоблюдение регламентов ранее существовавшей в России системы строгого контроля и учета случаев выявления венерических заболеваний и излечения от них, отсутствие четкого взаимодействия между надзорными учреждениями, бюджетными и частными медицинскими организациями, оказывающими специализированную помощь.

С другой стороны, особенностью трихомониаза как протоинвазии является низкая патогномичность клинического течения и наличие значительного количества сочетанных (смешанных), вялотекущих, асимптомных и малосимптомных форм инфекций уrogenитального тракта, число которых в последние годы значительно возросло. Частота выявления таких форм заболевания, в значительной степени, определяется социально-экономической достаточностью населения и его структурой, в том числе гендерной, уровнем образования и стереотипом отношения к здоровью, что в недостаточной степени учитывается при проведении эпидемиологических исследований.

Объективно несоответствие уровня фактической заболеваемости регистрируемой связано с отсутствием в Российской Федерации действующей нормативно-правовой базы лабораторной диагностики трихомониаза. Это приводит к тому, что применение ранее регламентированных методов микроскопии и культуральных исследований не позволяет в ряде случаев

идентифицировать «нетипичные» трихомонады, а использование в диагностики современных методов молекулярной генетики (ПЦР-анализ, ДНК-гибридизация и др.) и иммуноферментного анализа или их произвольных комбинаций, обусловленное, в первую очередь, техническими возможностями диагностических лабораторий и платежеспособностью пациента, в ряде случаев ведет к разночтению результатов исследований. В это связи возрастает актуальность исследований, направленных на разработку единого подхода к установлению диагноза «трихомониаз», учитывающего не только чувствительность, специфичность и воспроизводимость теста, но и клиническую картину заболевания, а также гендерную принадлежность пациента.

В то же время, формирование современной методологии диагностики трихомониаза, комплексной терапии и лабораторной оценки ее эффективности не возможно, особенно, в случаях асимптомных и малосимптомных форм течения заболевания без обоснования этиопатогенетических особенностей формирования адаптации организма к инфицирующему агенту и изучения механизмов развития резистентности *Trichomonas vaginalis* к противопротозойным препаратам в системе «хозяин–паразит».

Именно этим актуальным вопросам посвящена рецензируемая диссертация.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Представленный в диссертации подробный обзор научной литературы, касающийся морфологии и биологических свойств *Trichomonas vaginalis*, известных гендерных особенностей патогенеза и клинических проявлений уrogenитального трихомониаза, эпидемиологии и сравнительной оценки существующих лабораторных методов его диагностики, а также экспериментальных исследований возбудителя, позволил автору разработать логически выстроенный дизайн многопланового (эпидемиологического, клинико-лабораторного и экспериментального) исследования, четко сформулировать основную цель работы и вытекающие из нее задачи.

Основные результаты диссертационного исследования сформулированы в 4 положениях, выносимых на защиту и 6 выводах, наиболее важными из которых являются патогенетическое обоснование дифференциального подхода к выбору эффективных методов диагностики трихомониаза у мужчин и женщин, а также экспериментально установленное модифицирующее действие на культуральные свойства *Trichomonas vaginalis* организма больных, выраженность которого носила гендерный характер и зависела от формы течения заболевания.

Результатами исследования раскрыт один из патогенетических механизмов формирования резистентных популяций уrogenитальной трихомонады у пациентов мужского пола и доказана эффективность разработанного гендерного

алгоритма диагностики трихомониаза, что позволяет говорить об обоснованности и согласованности полученных данных и сделанных на их основании выводах.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

При проведении исследования и изложения материала автором были применены современные общенаучные методы: теоретико-методологический анализ источников научной литературы, эмпирические методы исследования в форме наблюдения, эксперимента, описания, измерения и сравнительно-сопоставительного анализа.

Эпидемиологические исследования проводили на основании официальных статистических отчётов дерматовенерологической службы Саратовской области (ф.9 и ф.34 МЗ РФ) и отчётов частных медицинских организаций за период с 2006 по 2012 год, а также анализа 1356 историй болезни пациентов с диагнозом «урогенитальный трихомониаз».

В клинико-лабораторный раздел исследования вошли 393 пациента (210 женщин и 183 мужчины) в возрасте от 18 до 42 лет с первично выявленным острым трихомониазом (уретрит, кольпит) и хроническими субманифестными и асимптомными формами. Из исследования были исключены лица, самостоятельно принимавшие антибиотики до обращения в медицинскую организацию, пациенты с микст-инфекциями и инвазиями, а также страдающие почечной и печёночной недостаточностью.

Техника взятия инокулята и забор крови соответствовали регламентирующим инструкциям и приказам МЗ РФ. При проведении лабораторных исследований было использовано сертифицированное оборудование и унифицированные методы анализа. Для выведения внутрилабораторных значений нормы ряда биохимических показателей, тестированных при проведении работы, были использованы образцы крови практически здоровых лиц.

Результаты исследований обрабатывались статистически с применением методов вариационной статистики. Применение вышеуказанных материалов и методов, а также грамотный анализ фактического материала позволил обеспечить объективность и достоверность полученных результатов и выводов.

Научная новизна работы очевидна.

Впервые в постсоветский период на территории Саратовской области был проведен многофакторный анализ динамики уровня зарегистрированной заболеваемости уrogenитальным трихомониазом, определена его гендерная зависимость и социально-экономическая очаговость.

Впервые при изучении патофизиологических механизмов формирования неспецифической адаптации к инфицированию *Trichomonas vaginalis* у больных трихомониазом выявлены сдвиги в иммунном статусе и системе ПОЛ – антиоксидантная защита, зависящие от гендерной принадлежности пациента и клинического течения заболевания.

Впервые в условиях стационарного и проточного культивирования на микроферментёре собственной конструкции автором проведен гендерный анализ фенотипической изменчивости клинических изолятов *Trichomonas vaginalis* показавший, что резистентные популяции урогенитальной трихомонады формируются только из изолятов, полученных от пациентов мужского пола. При этом одним из механизмов формирования резистентности к противопротозойным препаратам является уменьшение проницаемости цитоплазматической мембраны простейшего.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Приоритетность и значимость полученных автором результатов исследования подтверждена патентом на полезную модель «Модель мужского урологического тракта для проточного культивирования патогенных микроорганизмов», а также их широким внедрением в практическую деятельность медицинских организаций г. Саратова, занимающихся вопросами диагностики и лечения инфекций и инвазий, передаваемых половым путем: ММУП «Лечебно-консультативный центр, г. Саратов», ГУЗ «Саратовский областной кожно-венерологический диспансер»; клиники кожных и венерических болезней ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (акты внедрения №11, №12, №13 от 18.02.2014 г.).

Основные положения работы используются при чтении лекций и проведения практических занятий на кафедрах кожных и венерических болезней, клинической и лабораторной диагностики ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (акты внедрения №98, №99 от 10.01.2014г.).

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Результаты работы могут быть использованы при разработке гендерных алгоритмов лабораторной диагностики урогенитального трихомониаза, оценке эффективности лечебных и реабилитационных мероприятий и степени излечения от трихомонадной инвазии.

Кроме того, разработанный соискателем с соавторами проточный ферментер может быть широко использован при исследовании культуральных свойств патогенных микроорганизмов урогенитального тракта и разработке новых противопротозойных и антибактериальных лекарственных средств.

Содержание диссертации, ее завершенность.

Диссертация, изложенная на 134 страницах, построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, в том числе главы материалы и методы, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Список использованной автором литературы включает 287 источников, из них 207 отечественных и 80 – зарубежных работ.

Во введении обосновывается актуальность выбранной темы, четко определяется цель работы и вытекающие из нее задачи исследования.

Обзор литературы, состоящий из пяти подразделов и заключения, оставляет хорошее впечатление в силу обоснованного анализа литературных источников, касающихся морфологии, специфических биологических и культуральных свойств возбудителя урогенитального трихомониаза, его этиопатогенетических особенностей и клинических проявлений у мужчин и женщин, современных представлений об эпидемиологии трихомониаза и гендерных особенностей лабораторной диагностики этой протоинвазии. В заключении к обзору суммируются нерешенные вопросы патофизиологических закономерностей течения урогенитального трихомониаза и методов лабораторной диагностики в гендерном аспекте.

В главе «Материалы и методы» приводится общая характеристика обследованного контингента больных трихомониазом, использованные соискателем биологические объекты и методы лабораторных исследований – микроскопические, культуральные, иммуноферментные, молекулярно-биологические (полимеразная цепная реакция), биохимические; представлен перечень реактивов и рецептура рабочих растворов, приборное обеспечение экспериментальных исследований, методы статистической обработки результатов. Особое внимание уделено детальному описанию микроферментёра собственной конструкции – полезной модели мужского урологического тракта для культивирования патогенных микроорганизмов (патент № 126703 РФ).

В двух последующих главах собственных исследований отражены основные результаты работы. В главе, посвященной анализу мониторинговых исследований, приводятся данные динамики заболеваемости трихомониазом, зарегистрированной в 38 районах Саратовской области за период с 2006 по 2012 год, позволившие ранжировать территории по уровню заболеваемости и обосновать социально-экономическую очаговость данной протоинвазии, обусловленную, по мнению соискателя, различным гендерным составом и структурой населения регионов, а также уровнем и доступностью его медицинского обеспечения.

Гендерные особенности патогенеза клинического течения острого и хронического трихомониаза обосновываются на основании результатов изучения

клеточного и гуморального звена иммунного статуса: абсолютных значений и величины соотношений субпопуляций В-лимфоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов, уровня А, G и М иммуноглобулинов, а также состояния системы перекисное окисление липидов (ПОЛ) – антиоксидантная защита, критериями оценки которой служил уровень малоновых диальдегидов в красных клетках крови, содержание α -токоферола и величина антиоксидантного коэффициента.

Также в 3 главе автором приводятся результаты подбора наиболее эффективных методов лабораторной диагностики трихомониаза у мужчин и женщин и гендерный алгоритм рекомендуемых диагностических мер.

Четвертая глава диссертационной работы посвящена результатам экспериментальных исследований по культивированию в стационарных условиях и с использованием микроферментера возбудителя урогенитального трихомониаза, полученного из биоматериалов, выделенных от мужчин и женщин с различным клиническим течением заболевания. Проведенное многоплановое исследование, включавшее оценку влияния на культуральные свойства *Trichomonas vaginalis* противопротозойных препаратов, позволило автору вскрыть один из патогенетических механизмов формирования наследуемой модификационной изменчивости возбудителя трихомониаза, носящей гендерный характер.

В главе «Обсуждение результатов» автор суммирует и обсуждает полученные данные. Анализ результатов собственных исследований проводится в комплексе и подкрепляется уместными ссылками на литературные источники.

Выводы сформулированы корректно и соответствуют полученным результатам.

Таким образом, на основании анализа современных данных научной литературы с привлечением широкого спектра микробиологических, клинико-лабораторных, биохимических, иммунологических методов и многофакторного эпидемиологического обследования соискателем описаны факты, представляющие научную новизну и практическую значимость. Впервые экспериментально доказана способность *Trichomonas vaginalis* к длительным наследуемым модификационным изменениям и научно обоснована гендерная зависимость патогенетических механизмов формирования лекарственной резистентности *Trichomonas vaginalis*, а также выявлены гендерные особенности формирования патологических изменений в состоянии иммунного статуса и системы ПОЛ – антиоксидантная защита у больных урогенитальным трихомонозом, выраженность которых определяется клинической формой течения заболевания, предложен алгоритм диагностических мероприятий для пациентов разного гендера.

Приоритетность и значимость полученных автором результатов исследования подтверждена патентом на полезную модель и актами внедрения в практику специализированных медицинских организаций, занимающихся диагностикой и лечением заболеваний, передающихся половым путем.

У меня нет принципиальных замечаний по диссертационной работе. Однако имеется ряд пожеланий.

Представленный в работе обзор литературы занимает 35 страниц, более компактное изложение материала, а также объединение подразделов 1.1 «Этиология трихомониаза – биология и морфология *Trichomonas vaginalis*» и 1.5. «Экспериментальные исследования *Trichomonas vaginalis*», на наш взгляд, улучшило бы его восприятие.

Второе, если степень перекисидации организма определяется по содержанию в мембранах эритроцитов малонового альдегида, то, с биохимической точки зрения, при оценке состояния системы ПОЛ – антиоксидантная защита более корректным представляется анализ уровня активности каталазы, а не содержание α -токоферона в сыворотке сыворотки крови.

Кроме того, у меня имеется ряд вопросов.

1. На основании каких биохимических показателей Вы рассчитывали антиоксидантный коэффициент?
2. Вы считаете, что контроль состояния оксидант/антиоксидантного статуса может служить одним из критериев излечения больных женского гендера. В течение какого периода в среднем происходит нормализация уровня МДА при успешном лечении острого трихомониаза?

В заключении хотелось бы отметить, что представленная к защите диссертация является законченным исследованием, а сделанные замечания не снижают ее научной и практической значимости. Работа написана хорошим литературным языком, иллюстрирована 14 рисунками и 5 таблицами, облегчающими восприятие текста. Сделанные автором выводы соответствуют задачам исследования и логически вытекают из результатов работы.

Основное содержание диссертации раскрыто в 12 публикациях, в том числе 4 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах списка ВАК РФ, а также 1 монографии.

Содержания автореферата полностью соответствует основному тексту, положениям и выводам диссертации.

Результаты исследования докладывались на научных форумах различного уровня, в том числе на II Континентальном Конгрессе дерматологов МОД, Международном форуме по проблемам науки, техники и образования, Пленумах

Научных советов РФ по экологии человека и охране окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих.

Таким образом, диссертация Горчакова Дмитрия Александровича на тему: «Патогенетические особенности урогенитального трихомониаза в гендерном аспекте» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной медико-социальной проблемы: научное обоснование патогенетических особенностей клинического течения урогенитального трихомониаза у пациентов мужского и женского пола, а также экспериментально доказанные гендерные отличия наследуемой модификационной изменчивости *Trichomonas vaginalis*, что может быть использовано при разработке алгоритмов лабораторной диагностики заболевания и методологии его терапии, оценки степени излечения пациентов.

По совокупности критериев рецензируемая работа представляет собой законченное самостоятельное исследование, отвечающее требованиям, сформулированным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 84, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент,
главный научный сотрудник
ФБУН Саратовский НИИСГ Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, доцент

Безрукова Г.А.

Подпись Безруковой Галины Александровны удостоверяю

Зав. отделом кадров
ФБУН Саратовский НИИСГ Роспотребнадзора

Бачурина З.И.

28 июля 2014 г.

