

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Горчакова Дмитрия Александровича на тему: «Патогенетические
особенности урогенитального трихомониаза в гендерном аспекте»,
представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских
наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология**

Актуальность темы диссертации. Трихомониаз наиболее распространённое заболевание, передающееся половым путём. Характер протекания патологического процесса, обусловленный особенностями среды обитания простейшего паразита в организме мужчины или женщины, определяет гендерные различия в клинической картине и создаёт сложности в диагностике и лечении инфицированных лиц. В связи с этим, чрезвычайно важной остаётся проблема повышения эффективности диагностических способов и лечебных мероприятий в своевременном выявлении инфекции и надёжной её ликвидации. Успешное решение этих задач возможно как при учёте физиологии *Trichomonas vaginalis*, так и разностороннем и глубоком изучении патогенеза урогенитального трихомониаза. К сожалению, до настоящего времени имеется недостаточно сведений о состоянии гуморального и клеточного иммунитета при этой инвазии, о процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной (АО) защиты у больных трихомониазом с учётом гендерных особенностей. Актуальность изучения патогенетических механизмов, лежащих в основе инвазии паразита и его активной жизнедеятельности в организме человека, обоснована необходимостью разработки эффективных способов диагностики и борьбы с данной инфекцией с учетом гендерного аспекта. Поэтому абсолютно логичен выбор цели диссертационного исследования – установить патогенетические особенности урогенитального трихомониаза с учётом гендерной принадлежности больных.

Содержание работы

Диссертация изложена на 134 страницах компьютерного текста и состоит из списка сокращений, введения, главы обзора литературы, 4-х глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Иллюстративный материал представлен 5 таблицами и 14 рисун-

ками. Библиографический указатель включает 287 наименований, в том числе 207 отечественных и 80 иностранных источников.

Введение содержит традиционные разделы. В актуальности темы исследования особое внимание отводится гендерным аспектам в эпидемиологии, этиологии, патогенезе, диагностике и лечении урогенитального трихомониаза. До настоящего времени не проводилось системной научной оценки гендерных особенностей протоинвазии. Это обстоятельство определило цель и задачи исследования. Далее автор освещает научную новизну и научно-практическую ценность работы, что позволяет говорить о проведённом исследовании с позиции серьёзного вклада соискателя в развитие теоретических основ учения о трихомониазе и его использовании в практическом здравоохранении. Об этом свидетельствуют и данные по реализации результатов исследования с лечебно-диагностической целью в ЛПУ г.Саратова и Саратовской области (акты внедрения №11, №12, №13 от 18.02.2014 г.) и учебном процессе на кафедрах клинической и лабораторной диагностики ФПК и ППС, кожных и венерических болезней ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (акты внедрения №98, №99 от 10.01.2014 г.). Представленные положения, выносимые на защиту, касаются освещения основных итогов работы диссертанта, а апробация диссертации говорит о достаточном широком освещении среди специалистов и обсуждении ими наиболее важных фрагментов диссертации. Введение завершается сведениями о личном вкладе автора в исследование, о количестве публикаций по теме диссертационного исследования (12 научных работ, в том числе 4 статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, одна монография, патент РФ на изобретения), а также об объёме и структуре диссертации.

Первая глава «Обзор литературы» посвящена описанию современных представлений об этиологии, клинике и патогенезе, эпидемиологии урогенитального трихомониаза. Автор прослеживает почти двухвековую историю изучения трихомониаза и отмечает, что протоинвазия, по-прежнему, остаётся социально значимой болезнью с нерешёнными до конца проблемами ее этиологии, патогенеза, эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики. В

значительном количестве публикаций рассматриваются вопросы только специфики половых особенностей диагностики, клиники, патогенеза и лечения трихомониаза. Однако целостной картины влияния гендера на самого возбудителя, изменчивость его фенотипа и, как следствие - на изменения его чувствительности к лекарственным препаратам, в настоящее время в литературных источниках не обнаружено. Страдает и экспериментальная сторона исследования *Trichomonas vaginalis*. Обзор литературы даёт полное представление об актуальности патогенетического обоснования гендерных закономерностей, происходящих при трихомонадной инвазии, как в организме хозяина, так и паразита, с целью совершенствования имеющихся методов диагностики и лечения трихомониаза. Данные этих исследований, несомненно, могут быть полезны при разработке новых лекарственных противопрозоидных препаратов и новых схем реабилитации больных после лечения острых и хронических форм урогенитального трихомониаза. Обзор написан хорошим литературным языком, изложение материала подкупает логичностью и глубиной подачи, что свидетельствует о серьезных знаниях автора проблемы урогенитального трихомониаза в целом и гендерных особенностей этой инвазивной патологии, в частности.

Вторая глава «Материалы и методы исследований». Диссертационное исследование автор выполнял по двум направлениям. Первое – изучение гендерных аспектов динамики эпидемиологической ситуации по заболеваемости трихомониазом в Саратовской области, патогенетических механизмов гендерных особенностей изменений иммунного и антиоксидантного статусов больных с различным течением трихомониаза, а также научное обоснование гендерных принципов в эффективности диагностики этой патологии (мониторинговые исследования). Второе – экспериментальное. В условиях проточного культивирования изучалось влияние препаратов 5-нитроимидазолового (5-НИ) ряда на этиологический объект – *Trichomonas vaginalis* и патогенетические механизмы формирования лекарственной резистентности с учетом гендерной принадлежности.

Эпидемиологические исследования автор проводил на основании официальных статистических отчетов дерматовенерологической службы Сара-

товской области (ф.9 и ф.34 МЗ РФ), а также отчётов работы частных клиник и частно практикующих врачей – дерматовенерологов и урологов. С этой целью изучено 1356 историй болезни пациентов с диагнозом «урогенитальный трихомониаз» за период с 2008 по 2012 гг.

Обследованы 393 пациента – 210 лиц женского и 183 мужского пола в возрасте от 18 до 42 лет. Все обследованные больные были с первично выявленным острым трихомониазом (уретрит, кольпит) и хроническими субманифестными и асимптомными формами. Диагноз обследованного контингента больных ставили на основании клинических данных, результатов микроскопии нативного (влажного) и окрашенного мазков, материалов культуральных и молекулярно-генетических исследований методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), метода иммуноферментного анализа (ИФА). С использованием ИФА были обследованы 149 больных мужского и 152 пациента женского пола.

Экспериментальные исследования были направлены на изучение жизнедеятельности уrogenитальной трихомонады *in vitro* в условиях непрерывного проточного культивирования *Trichomonas vaginalis* в микроферментёре собственной конструкции. Это направление исследований, на наш взгляд, существенно украсило диссертационную работу. Доказательной базой, подтверждающей объективность полученных новых знаний, является корректная статистическая обработка числового материала с определением вида распределения и вычислением критерия достоверности.

Материал, представленный в главе, свидетельствует о высоком методологическом и методическом обеспечении диссертационного исследования.

Третья глава «Мониторинговые исследования» посвящена гендерному анализу заболеваемости трихомониазом в Саратовской области в период с 2006 по 2012 год. Оказалось, что регистрируемое количество случаев инфицирования трихомониазом увеличивалось из года в год среди женщин и снижалось среди мужчин. Возрастная структура заболеваемости уrogenитальным трихомониазом среди мужчин и женщин Саратовской области также имела гендерные особенности: если большинство заболевших мужчин относились к возрастной категории 20-29 лет (максимальная половая активность), то воз-

растной состав заболевших женщин был достаточно широк – от 20 до 40 лет и старше. Исследования выявили стойкие очаги напряжённой эпидемиологической обстановки по трихомониазу в 7 из 38 районов Саратовской области, в которых заболеваемость различными формами этой патологии в 2012 г. достигала 370 случаев на 100 тыс. населения (Саратовском, Балаковском, Вольском, Марксовском, Пугачёвском, Ртищевском и Энгельском), при 96 случаях на 100 тыс. населения в среднем по области. В 4 районах (Аркадакском, Дергачёвском, Турковском и Романовском) заболеваемость трихомониазом была низкой – 57 случаев на 100 тыс. населения. О социальных корнях заболевания говорит и тот факт, что между уровнем заболеваемости урогенитальным трихомониазом в районах Саратовской области с высоким социально-экономическим потенциалом и существенно низкими показателями экономического развития имеется сильная прямая достоверная корреляционная зависимость.

В этой главе диссертант также представил результаты изучения патогенетических особенностей трихомониаза в гендерном аспекте. Были исследованы состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета и оксидант/антиоксидантный статус пациентов. Анализ гендерных особенностей патогенетических механизмов системного иммунного ответа при урогенитальном трихомониазе различных форм течения показал, что все изученные иммунные реакции клеточного, гуморального иммунитета, фагоцитарной активности статистически значимо ($p < 0,05$) отличались у пациентов женского и мужского пола.

Патогенетические механизмы нарушений антиоксидантной защиты при остром и хроническом урогенитальном трихомониазе у пациентов различного гендера также имели существенные различия. При острой патологии у женщин наблюдали существенное увеличение количества малонового диальдегида (МДА) и одновременное снижение концентрации токоферола ($p < 0,05$), что свидетельствовало о нарушении антиоксидантной защиты. У мужчин нарушения баланса в системе оксидант/антиоксидант не установлены. При хроническом трихомониазе у женщин отмечали снижение уровня МДА и повышение концентрации токоферола по сравнению с показателями

при острой патологии, а у мужчин, напротив, наблюдали увеличение количества МДА ($p < 0,05$) и снижение ($p < 0,05$) уровня витамина Е.

В главе приведена оценка эффективности методов лабораторной диагностики трихомониаза у пациентов мужского и женского пола. Анализ результатов исследований показал, что в диагностике различных форм течения трихомониаза у мужчин наиболее информативными являются ИФА и молекулярно-генетические методы диагностики, а у женщин – микроскопия и культуральный метод.

В четвертой главе «Экспериментальные исследования» автор приводит материалы микробиологических экспериментов с трихомонадой на микроферментёре собственной конструкции, в котором культивировали *Trichomonas vaginalis*, полученную от мужчин и женщин с острым и хроническим течением трихомониаза. Оказалось, что скорость роста трихомонад, высеянных от женщин, существенно выше, чем полученных от мужчин, однако это касалось только культур, выделенных у пациентов с острым течением патологического процесса. Интерес представляют и результаты экспериментов с культивированием паразита на различных средах в присутствии коллагена или клеток простаты. Если на субстрате носителя Citodex-3 с коллагеном быстрее размножались трихомонады, выделенные у женщин, то на том же субстрате с добавлением клеток простаты – трихомонады, полученные у мужчин. Анализируя результаты экспериментов на проточных культурах урогенитальных трихомонад, полученных от больных мужского гендера, автор пришёл к выводу, что низкая комплаентность пациентов и хронические формы трихомониаза не причастны к формированию резистентности урогенитальной трихомонады к препаратам 5-нитроимидазола. Опыты, выполненные в практически стерильной среде с монокультурой паразита, подтвердили положение о «непричастности» сопутствующей в обычных условиях *in vivo* микрофлоры к формированию устойчивости трихомонад к 5-нитроимидазолу. Резистентность паразитов к препарату была связана с усилением барьерных функций цитоплазматических мембран временного характера. Автор объясняет это явление модификационной изменчивостью, характерной для Подцарства Простейших.

В пятой главе «Обсуждение результатов» представлен краткий анализ полученного материала с привлечением литературных данных. Здесь в полной мере раскрывается эрудиция автора, его широкий кругозор, глубокие знания предмета исследования.

Шесть выводов и четыре практических рекомендации логичны и концентрируют в себе сущность выполненного диссертационного исследования, полностью определяют решение поставленных цели и задач научного изыскания.

Список литературы составлен в соответствии с требованиями ГОСТ.

Научная новизна исследования заключается в доказательстве, с одной стороны, гендерных отличий в функционировании иммунной и оксидант/антиоксидантной систем у мужчин и женщин, страдающих трихомониазом различного течения, а, с другой – наличия фенотипической изменчивости клинических изолятов *Trichomonas vaginalis*, высеянных из «мужского» и «женского» биоматериалов. Кроме того, установлен один из механизмов развития обратимой резистентности *Trichomonas vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазолового ряда, характерный для обитания простейшего в мужском организме и связанный с усилением барьерной функции клеточной мембраны паразита за счёт уменьшения её проницаемости.

Научно-практическая ценность исследования связана с экспериментальным обоснованием как гендерных отличий реакции макроорганизма на инвазию *Trichomonas vaginalis*, так и микроорганизма при его обитании в половой сфере мужчины или женщины. Это положение необходимо учитывать при разработке алгоритмов лабораторной диагностики и лечения, а также при поиске критериев излечиваемости трихомониаза.

Гендерные особенности модификационной изменчивости трихомонады лежат в основе формирования её лекарственной резистентности к 5-нитроимидазолу и его препаратам, что необходимо учитывать при назначении курса лечения больным с учётом их пола и характера течения заболевания.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается тем, что работа выполнена на репрезентативном материале. Под наблюдением диссертанта находились 393 пациента, в том

числе 210 женщин и 183 мужчины в возрасте от 18 до 42 лет. Изучено 1356 историй болезни пациентов с диагнозом «урогенитальный трихомониаз» за период с 2008 по 2012 гг. Достаточный объем микробиологических и биохимических исследований, высокий уровень их методического обеспечения позволили получить объективную информацию, а статистическая обработка полученных результатов – подвести доказательную базу. Все эти факты дают право считать доказанными и обоснованными выводы и практические рекомендации, а также выдвинутые автором научные положения. Следует подчеркнуть личное участие автора в выполнении исследования, что дополнительно гарантирует точность проведения преаналитического, аналитического и постаналитического этапов научной работы.

Замечаний по работе нет. Диссертация написана хорошим литературным языком, читается легко и с интересом. Единичные стилистические погрешности и опечатки не сказываются на качестве работы. Диссертация Д.А.Горчакова заслуживает самой высокой положительной оценки.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 4 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, одна монография. Получен патент РФ на полезную модель №126703 «Модель мужского урологического тракта для проточного культивирования патогенных микроорганизмов».

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. В автореферате в полной мере отражено содержание диссертации, раскрыты ее положения и выводы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертация Горчакова Дмитрия Александровича на тему: «Патогенетические особенности уrogenитального трихомониаза в гендерном аспекте» является законченной научно-квалификационной работой, соответствующей специальности 14.03.03 – патологическая физиология, в которой решена важная задача по доказательству наличия гендерных особенностей патогенеза уrogenитального трихомониаза. Полученные результа-

ты имеют теоретическое и практическое значение и представляют собой ценный материал для дальнейших исследований и практического использования.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертация Д.А. Горчакова полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор - Горчаков Дмитрий Александрович - заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Доктор медицинских наук, профессор;
ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации; группа физиологии и
патофизиологии отдела фундаментальных и
клинико-экспериментальных исследований,
главный научный сотрудник

Пучиньян Даниил Миронович

410002, г.Саратов, Чернышевского,148.
Сл.тел.: 8(8452) 39-32-03
Сот.тел.: 8(905)034-20-63
E-mail: puchinyan@mail.ru

Подпись д.м.н., профессора Даниила Мироновича Пучиньяна «заверяю».

Начальник отдела кадров

ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России

« 15 » 08 2014 г.



Е.В.Грачева