

Отзыв официального оппонента на диссертацию Гульневой Марины Юрьевны на тему «Особенности микробиоценоза организма при ревматических заболеваниях», представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.22 – «ревматология»

Актуальность исследований, посвящённых изучению микробиоценоза организма больных ревматическими заболеваниями, не вызывает сомнения. Не смотря на масштабные исследования, начатые в 2007 г. учёными всего мира в рамках консорциума и проекта «Микробиом человека», основные механизмы участия микрофлоры организма в патогенезе аутоиммунных заболеваний остаются нераскрытыми. Изучение динамического взаимодействия микрофлоры и организма больных может помочь определить патогенетическое значение микробиоты в развитии ревматических заболеваний, понять, каким образом микробиом человека способствует развитию болезни, охарактеризовать роль взаимодействия между генетикой и разнообразием микроорганизмов в патогенезе аутоиммунных заболеваний, понять значение факторов, инициирующих прогрессирование патологического процесса и повышающих риск осложнений и, в конечном счёте, разработать новые стратегии терапии. Значимость исследования определяется сохранением в настоящее время актуальности оппортунистических инфекций. В ревматологии риск их развития обусловлен как наличием аутоиммунного заболевания, так и необходимостью применения препаратов, обладающих иммуносупрессивным действием. Антропогенное воздействие мощного фактора эволюции живой материи привело в последние годы к стиранию грани между патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. УПМ, обладая выраженной биологической и экологической пластичностью, способны длительно персистировать в условиях изменения иммунного статуса организма больных и, характеризуясь определённой вирулентностью, способны играть ведущую роль при многих патологических состояниях. При ревматических заболеваниях УПМ привлекают внимание исследователей с позиции их участия в этиопатогенезе заболевания и ведущей роли в развитии коморбидных инфекций. Ревматические заболевания можно рассматривать как объединённый эффект многократных генетических изменений, инфекционных и иммунорегуляторных факторов, ведущих к доминирующим аутоиммунным проявлениям в дополнение к частым оппортунистическим инфекциям. При ревматических заболеваниях не исследованы персистентные характеристики УПМ, колонизирующих организм больных. Изучение особенностей биологических свойств УПМ может помочь в понимании их роли при аутоиммунных процессах и иметь значение в снижении риска инфекционных осложнений и других коморбидных заболеваний.

Разработка характеристики микробиома и особенностей биологических свойств УПМ при ревматических заболеваниях составляет важную отраслевую задачу.

Следует отметить важность изучения микробиоценоза в условиях проведения противовоспалительной терапии. Выявление изменений микробиома организма больных при применении генно-инженерных биологических препаратов, глюкокортикоидов, нестероидных противовоспалительных препаратов и в ходе коррекции микрофлоры с применением про- и пребиотиков может помочь определить стратегию противовоспалительной терапии, снизить риск развития нежелательных побочных реакции и осуществить персонализированное ведение больных ревматическими заболеваниями.

Основные результаты работы и их новизна

В результате проведённого комплексного клинико-лабораторного изучения микробиоценоза организма больных остеоартрозом (ОА), ревматоидным артритом (РА), системной красной волчанкой (СКВ) получены новые данные, свидетельствующие о том, что дисбиоз кишечника является общим клинико-лабораторным синдромом ревматических заболеваний (РЗ) и выявляется у 97% больных СКВ, 91% РА, 75% больных ОА. Полученные результаты позволили установить информативность в характеристике микробиоценоза выявления в открытых биотопах УПМ родов *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*.

Проведённые исследования позволили выделить наиболее значимые факторы, связанные с формированием микрoэкологических нарушений, включающие воспалительную активность РЗ, пожилой возраст, перенесенные коморбидные инфекции (КИ) в анамнезе, терапию генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП) и нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП).

Впервые проведено изучение биологических свойств УПМ, выделенных от больных РЗ. Установлено, что открытые биотопы колонизированы УПМ, обладающими выраженным персистентным потенциалом, проявляющимся высоким уровнем адгезивных свойств, наличием антилизоцимной активности, антилактоферриновой активности, существенно большей способностью к биоплёнокообразованию, избирательной антибиотикочувствительностью, что позволяет им воздействовать на иммунные процессы в организме больных РЗ и повышает их потенциальную роль в развитии инфекций.

В сравнительных исследованиях при применении в комплексной терапии ОА, РА, СКВ пре- и пробиотиков установлено нормализующее влияние их на микрoэкологический статус и клинические проявления дисбиоза, что позволило обосновать включение методов коррекции микрoэкологического статуса в стратегию ведения больных РЗ.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Цель и задачи исследования чётко сформулированы. Для их решения использованы современные информативные клинические и лабораторные методы исследования, получен достаточный фактический материал. При анализе результатов использованы адекватные критерии и современные статистические программы, что обеспечивает достоверность и обоснованность выводов и практических

рекомендаций. Выполненная диссертационная работа позволяет расширить существующее представление об особенностях микробиоценоза, наиболее значимых факторах, имеющих значение в формировании микробиологических нарушений организма больных ревматическими заболеваниями. Полученные данные позволили соискателю охарактеризовать потенциальную роль микробиоты в патогенезе РЗ и обосновать применение средств коррекции дисбиоза. Продемонстрировано нормализующее влияние на микробиологический статус и клинические проявления дисбиоза пре- и пробиотиков в комплексной терапии ОА, РА, СКВ.

Научная и практическая значимость полученных результатов и их внедрение в практику. Направление исследований диссертационной работы носит оригинальный и принципиально новый характер. Впервые получены данные о частоте распространения нарушений микробиоценоза у больных ревматическими заболеваниями, представлена характеристика особенностей микрофлоры открытых биотопов организма больных, проанализирована колонизация организма пациентов УПМ, охарактеризованы симбиотические отношения представителей резидентной и транзитной микрофлоры, установлена информативность определения носительства УПМ в выявлении дисбиотических нарушений у пациентов с высоким риском коморбидных инфекций и при решении вопроса о применении ГИБП. Впервые определены параметры, наиболее полно отражающие формирование микробиоценоза организма, и более значимые факторы, связанные с формированием микробиологических нарушений при ревматических заболеваниях.

В практику здравоохранения рекомендовано внедрение методов оценки микробиологического статуса пациентов. Сведения о антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных у пациентов, создают основу для рационального применения антибиотиков у ревматических больных. Результаты исследования демонстрируют целесообразность использования методов коррекции микробиологического статуса у пациентов с факторами риска развития дисбиоза. Использование комбинации пре- и пробиотика при микробиологических нарушениях III степени позволяет оптимизировать лечение РЗ.

Материалы диссертации внедрены в работу ревматологического отделения ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», терапевтических отделений ГБУЗ ЯО «Клиническая больница № 9» и ГБУЗ ЯО «Клиническая больница № 3». Теоретические положения диссертации включены в лекционный курс и программу практических занятий для студентов, ординаторов и врачей — слушателей кафедры терапии ИПДО и кафедры госпитальной терапии с профпатологией ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России.

Полнота изложения основных результатов диссертационной работы. Результаты работы опубликованы в 59 печатных работах, из них 19 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки России для опубликования результатов диссертационного исследования, двух монографиях, учебном пособии, трёх работах в международных науч-

ных изданиях. Результаты исследования докладывались на международных и российских конгрессах и конференциях.

Оценка содержания работы

Диссертация Гульневой М. Ю. является законченным научным квалификационным трудом, представлена в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований (7 глав), обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 262 страницах машинописного текста, иллюстрирована 117 таблицами и 25 рисунками. Библиографический список включает 363 источника, из них 75 отечественных и 288 иностранных авторов.

Во введении обоснована актуальность рассматриваемой проблемы. Цель и задачи исследования сформулированы чётко, раскрыты научная новизна и практическая значимость работы, отражены положения, выносимые на защиту. В обзоре литературы диссертант даёт разностороннюю характеристику изучаемой проблемы. Обзор литературы написан хорошим литературным языком. Соискатель провела всесторонний анализ отечественных и зарубежных источников литературы, имеющих непосредственное отношение к цели и задачам диссертационной работы, что свидетельствует о глубоком знании предмета исследования.

Во главе «Материалы и методы исследования» дана характеристика разделов исследования, критерии формирования групп, характеристика обследованных больных и изолированных культур микроорганизмов. Представленные в работе клинические, инструментальные, лабораторные, микробиологические методы исследования тщательно спланированы, современны, адекватны поставленным задачам. Статистическая обработка полученных результатов исследований проведена с помощью корректных методов статистической обработки. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В третьей главе приведены результаты изучения микробиоценоза организма больных остеоартрозом. Установлено, что у больных преобладала II степень нарушений микрофлоры толстого кишечника. Коморбидные инфекции в анамнезе сопровождались нарушением элиминации патогенов, сохранением колонизации слизистых оболочек УПМ, что может способствовать хронизации воспалительного процесса. Проведено изучение микрoэкологического статуса больных при применении НПВП. Установлено, что постоянное использование НПВП ассоциировано со значительными нарушениями микробиоты: повышалось представительство УПЭБ и развивались нарушения микрофлоры кишечника III степени. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В четвёртой главе изучение микробиоценоза организма больных ревматоидным артритом показало формирование нарушений микрофлоры кишечника II-III степени. Колонизация организма УПЭБ и коагулазоположительными стафилококками наблюдалась при высокой степени активности, наличии системных проявлений, длительности заболевания свыше 10 лет, у

пожилых пациентов и применении генно-инженерных биологических препаратов, что следует учитывать в реализации персонализированного подхода в терапии данных пациентов. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В пятой главе проведён анализ микробиоценоза организма больных системной красной волчанкой. Установлено формирование микрoэкологических нарушений микрофлоры кишечника III степени более чем у 50% больных. Бактерии родов *Enterobacter* и *Klebsiella* обнаружены в моче и на слизистой оболочке носа, что, по мнению соискателя, характеризует транслокацию микроорганизмов из биотопа толстой кишки. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В шестой главе представлены результаты изучения биологических свойств микроорганизмов, выделенных от больных. Доказано наличие у них выраженных адгезивных свойств, антилизоцимного и антилактоферринового потенциала, большей способности к биоплёнкообразованию и избирательной чувствительности к антибиотикам. Данные свойства УПМ объясняют их высокую распространённость у больных, и возможное участие в этиопатогенезе РЗ. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В седьмой главе представлены результаты изучения уровня IgG-антител к антигенам бактерий у больных ревматическими заболеваниями. Высокий уровень IgG антител к антигенам УПМ различных видов может быть результатом дисбиоза у ревматических больных. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В восьмой главе представлены данные свидетельствующие, что использование пре- и пробиотиков в комплексной терапии РЗ оказывает позитивный модулирующий эффект на микробиоту, и позволило рекомендовать их применение для коррекции микрoэкологических нарушений III степени и оптимизации терапии ревматических заболеваний. Результаты исследования обосновывают целесообразность использования методов коррекции микрoэкологического статуса у пациентов с факторами риска развития дисбиоза. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

В девятой главе проведён анализ результатов микробиологических исследований. Установлено, что наиболее значимыми факторами в формировании нарушений микробной экологии являются активность заболевания у больных СКВ и РА, пожилой возраст, терапия с использованием генно-инженерных биологических препаратов у больных РА, перенесенные коморбидные инфекции, постоянное применение НПВП у больных ОА. Выявлены общие тенденции значимости изучения микробиоценоза и определён основной проблемный параметр микробиоценоза — наличие УПЭБ. Данный показатель обладает максимальной информативностью в характеристике микробиоценоза больных ревматическими заболеваниями. Глава написана чётко, понятно, замечаний нет.

Обсуждение результатов представляет всесторонний анализ собственных данных в сопоставлении с данными литературы. Проведено обобщение и осмысление полученных результатов, проанализированы основные положения

ния диссертации. Выводы обоснованы, логично вытекают из поставленной цели и задач исследования, полностью соответствуют приведённым результатам исследования. Полученные данные позволили сформулировать практические рекомендации.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

Работа, представленная М. Ю. Гульневой, выполнена на современном методическом уровне. Поставленные цели и задачи выполнены полностью. Исследование имеет существенное теоретическое и практическое значение, поскольку в нём установлены особенности микробиоценоза организма при ревматических заболеваниях и предложены новые подходы к терапии с использованием методов коррекции микроэкологического статуса пациентов, что может способствовать улучшению лечения ревматических заболеваний.

Принципиальных замечаний с точки зрения методики выполнения диссертации, статистической обработки материалов, обоснования выводов и практических рекомендаций нет. В рукописи имеются отдельные стилистические погрешности. Вместе с тем возник ряд вопросов, на которые хотелось бы услышать ответы соискателя:

1. Как соискатель доказывает транслокацию *Enterobacter spp.* и *Klebsiella spp.*, обнаруженных в моче и на слизистой оболочке полости носа, из биотопа толстой кишки в почки и в биотоп верхних дыхательных путей?
2. Для каких клинических изолятов УПМ определялось биоплёнкообразование? Что понимает соискатель под существенно большей способностью к биоплёнкообразованию – биоплёнкообразование клинического изолята по сравнению с референс-штаммом?
3. Определял ли соискатель чувствительность к антибиотикам биоплёночных культур микроорганизмов? Если определял, то, как различалась чувствительность планктонных и биоплёночных культур УПМ?
4. Почему для коррекции дисбиоза кишечника соискатель остановил свой выбор на бифиформе и лактусане, а не на других пробиотиках?

Однако все перечисленные замечания не носят принципиального характера и, ни в коей мере, не снижают общей положительной оценки диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Гульневой Марины Юрьевны на тему: «Особенности микробиоценоза организма при ревматических заболеваниях», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Носкова Сергея Михайловича, является законченной научно-квалификационной работой, посвящённой решению крупной научной проблемы — характеристике особенностей микрофлоры организма больных, отработке оптимальных направлений терапии, разработке комплексного подхода нормализации микробиологических нарушений, что позволит повысить эффективность лечения и снизить риск нежелательных реакций при ревматических заболеваниях.

По объёму выполненного исследования, его актуальности, методическому уровню, научной новизне, практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённому постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора медицинских наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.22 - «Ревматология».

Официальный оппонент
Руководитель отдела микробиологии
Федерального бюджетного учреждения науки
«Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии
им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора
доктор медицинских наук, профессор


А. Ю. Миронов

20 января 2018 г.

Подпись профессора Миронова А. Ю. заверяю.

Учёный секретарь
ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора
кандидат медицинских наук


А. В. Сафронова