

«УТВЕРЖДАЮ»  
Ректор ФГБОУ ВО ЯГМУ  
Минздрава России, профессор  
А.В. Павлов  
« 14 » 2016 г

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация Гульневой Марины Юрьевны на тему «Особенности микробиоценоза организма при ревматических заболеваниях» выполнена на кафедре госпитальной терапии с профпатологией Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Гульнева Марина Юрьевна работает ассистентом кафедры госпитальной терапии с профпатологией Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2003 году окончила Ярославскую государственную медицинскую академию по специальности «лечебное дело».

В 2007 году в диссертационном совете при Ярославской государственной медицинской академии защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по теме «Микробиоценоз кишечника у больных системными заболеваниями соединительной ткани и системными васкулитами» по специальности 14.00.39 - Ревматология.

Научный консультант: Носков Сергей Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии с

профпатологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Гульневой Марины Юрьевны «Особенности микробиоценоза организма при ревматических заболеваниях» выполнена по проблемам «Ревматологии» и входит в план научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России (номер регистрации 115080510099). Получено одобрение локальных Этических комитетов в отношении возможности проведения исследования по теме «Оценка особенности микробиоценоза организма больных при ревматических заболеваниях» (протокол от 21.02.2013; № 1 от 29.01.2015).

Основные положения и выводы диссертации основаны на материалах первичной медицинской документации и полностью им соответствуют. Сформулированные автором выводы вытекают из полученных при проведении исследования результатов и научных положений, защищаемых автором, сформулированы исчерпывающе, полностью соответствуют задачам исследования, имеют несомненное научное и практическое значение. Практические рекомендации изложены понятным языком и могут служить методическими указаниями для врачей ревматологов, терапевтов и других специалистов, занимающихся лечением пациентов с ревматическими заболеваниями.

В работе представлены результаты обследования 304 человек, в том числе – 98 больных остеоартрозом (ОА), 130 больных ревматоидным артритом (РА), 36 больных системной красной волчанкой (СКВ) и 40 практически здоровых лиц группы сравнения. Исследованы биологические свойства 412 штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных у больных ревматическими заболеваниями, музейные и клинические культуры. При клиническом, микробиологическом и дополнительном обследовании



пациентов были корректно заполнены тематические карты.

Проведенные исследования показали, что при ревматических заболеваниях с высокой частотой развиваются микробиологические нарушения микрофлоры толстого кишечника различной степени у 75% больных ОА, 90% больных РА и 97,2% больных СКВ. Системность воспалительного процесса характеризовалась значительными нарушениями кишечного микробиоценоза. При СКВ микробиологические нарушения III степени определяли у 58% больных. Отсутствие микробиологических нарушений микрофлоры наблюдалось только у одного пациентов с СКВ. У больных РА преобладали микробиологические нарушения микрофлоры II и III степени. У больных ОА преобладали микробиологические нарушения микрофлоры толстого кишечника II степени. Качественные изменения микробиоценоза характеризовались повышением частоты выделения энтерококков, клостридий, кишечных палочек с измененными свойствами, УПЭБ и золотистого стафилококка. Открытые биотопы организма больных были колонизированы условно-патогенными микроорганизмами и *S. aureus*, в частности. Установлено распространение в открытых биотопах бактерий семейства Enterobacteriaceae. При разных нозологических формах выявлены особенности преобладания отдельных видов энтеробактерий. Так, у больных ОА чаще выявляли бактерии рода *Klebsiella*. У пациентов с РА с большей частотой выделялись бактерии рода *Proteus* ( $p < 0,05$ ), а при СКВ — бактерии рода *Enterobacter* ( $p < 0,01$ ). Отмечалось наличие тесных прямых корреляционных взаимосвязей распространения условно-патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae (УПЭБ): *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. *Morganella morganii* в открытых биотопах организма больных ( $p < 0,05$ ), что отражает вероятную транслокацию бактерий из типичных мест обитания и может быть связано с нарушением барьерной функции слизистой кишечника. Особенности микробиоценоза проявлялись при различной активности и выраженности воспалительного процесса. Установлено, что при ОА у пациентов в возрасте старше 60 лет существенно

чаще выявлялись микроорганизмы, обладающие гемолитической активностью, лактозонегативные кишечные палочки присутствовали в большем количестве и чаще формировались микробиологические нарушения микрофлоры кишечника III степени. В развитии микробиологических нарушений имели значение избыток массы тела у больных ОА и перенесенные коморбидные инфекции у больных ОА и РА. Изменения микробиоценоза организма больных ревматическими заболеваниями тесно связаны с применением ряда лекарственных препаратов. У больных ОА при постоянном применении НПВП наблюдалось развитие микробиологических нарушений микрофлоры кишечника III степени в 27,78% случаев, у пациентов, использовавших НПВП в период усиления болей, такие нарушения не были выявлены. У больных РА на фоне терапии ГИБП установлена колонизация открытых биотопов золотистым стафилококком, который в большем проценте случаев был обнаружен в кишечнике, на слизистой оболочке носа и в моче. У больных СКВ при применении преднизолона обнаружены изменения качественного состава микробиоценоза. Условно-патогенные микроорганизмы, выделенные у больных ревматическими заболеваниями, характеризовались высоким персистентным потенциалом, что позволяет им преодолевать защитные механизмы видового иммунитета, воздействовать на иммунные процессы в организме больных, принимать участие в развитии коморбидных инфекций. При ревматических заболеваниях наблюдалось изменение частоты и уровня IgG антител к антигенам условно-патогенных бактерий. Большой титр IgG антител к нескольким видам условно-патогенных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*) характеризует поликлональную стимуляцию иммунного ответа, ассоциируется с расстройством системы распознавания при селективном ответе на антигены микроорганизмов. Установленные изменения характера микрофлоры организма больных послужили основанием для проведения исследования микробиоценоза кишечника при коррекции дисбиоза.



Проведение курса коррекции микробиоценоза с использованием бифидоформа и лактуса у больных ОА, РА и СКВ оказывало позитивное модулирующее действие на микробиоценоз открытых биотопов организма и клинические проявления дисбиоза. Более существенная нормализация показателей, характеризующих микробиоценоз кишечника, была установлена у больных ОА. Применение пробиотика приводило к увеличению в составе кишечной микрофлоры количества бифидобактерий, лактобактерий и кишечных палочек у больных ОА, существенному снижению колонизационных свойств УПЭБ у больных ОА и РА, элиминации *S. aureus* у больных СКВ. Пробиотики можно использовать как новый терапевтический подход для модулирующего воздействия на микробный статус больных РЗ на основе признания важности для организма микробных взаимодействий. Иерархический кластерный анализ позволил определить основной проблемный параметр микробиоценоза организма больных РЗ – наличие УПЭБ. Выявление данных микроорганизмов следует учитывать при диагностике дизбиотических нарушений требующих терапевтического воздействия.

Таким образом, проведение исследования, обработка полученных данных с применением современных методов математического анализа позволили автору детально изучить особенности микрофлоры организма больных ревматическими заболеваниями, установить наиболее значимые факторы в формировании нарушений микробиоценоза организма при РЗ, определить биологические свойства оппортунистических микроорганизмов, выделенных у больных, установить изменение спектра IgG антител к антигенам условно-патогенных микроорганизмов, оценить влияние на микробиоценоз организма противовоспалительной терапии, обосновать применение комбинации пре- и пробиотика, что даёт возможность персонализировать и оптимизировать методы терапии ревматических заболеваний.

## **Конкретное участие автора в получении научных результатов**

На основе анализа имеющихся в научной литературе данных, посвященных характеристике микрофлоры у больных РЗ, автором поставлены цель и задачи исследования, определены оптимальные методы для проведения научной работы. Диссертантом разработаны протоколы исследований, сформированы и использованы электронные базы данных на больных ОА, РА, СКВ, выделенные штаммы условно - патогенных микроорганизмов, выполнена статистическая обработка полученных данных.

На клинических базах ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России автором лично проведен физикальный осмотр обследованных лиц, анализ клинико-лабораторных данных, результатов инструментального исследования, забор материала для микробиологического исследования. На лабораторной базе ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России при личном участии автора выполнены микробиологические исследования, изучены биологические свойства микроорганизмов. Полученные результаты были обобщены, проанализированы, обсуждены и сопоставлены с данными других исследований, на их основании сформулированы выводы и практические рекомендации. Результаты исследования отражены в научных публикациях и докладах, в которых личный вклад автора является определяющим. Первичная документация подтверждена актом проверки.

## **Научная новизна**

Впервые в Российской Федерации проведено комплексное клинико-лабораторное изучение микробиоценоза организма больных ОА, РА, СКВ, позволившее получить достоверные сведения о распространенности и особенностях дисбиотических нарушений. Установлено, что дисбиоз кишечника является общим клинико-лабораторным синдромом РЗ. Выявление УПЭБ (рода *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*) в открытых биотопах имеет максимальную информативность в характеристике микробиоценоза



больных РЗ. Выделены наиболее значимые факторы, связанные с формированием микробиологических нарушений, включающие воспалительную активность РЗ, пожилой возраст, перенесенные КИ в анамнезе и терапию ГИБП и НПВП. Впервые определены биологические свойства оппортунистических микроорганизмов, выделенных у больных на основании исследования их адгезивных, персистентных характеристик и чувствительности к антибиотикам. Установлен повышенный уровень IgG антител к антигенам условно-патогенных микроорганизмов у больных РЗ. Продемонстрированы результаты эффективного использования пре- и пробиотиков в комплексной терапии ОА, РА и СКВ. Нормализующее влияние на микробный статус и клинические проявления дисбиоза позволяет обосновать их применение в качестве новых терапевтических стратегий.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Внесен вклад в разработку и решение проблемы в области изучения микробиома человека при разных РЗ. Полученные данные об особенностях микробиоценоза организма больных РЗ и свойствах условно-патогенных бактерий создают теоретическую основу для дальнейших исследований новых терапевтических подходов в ревматологии. В практику здравоохранения по итогам проведенной работы рекомендовано внедрение методов оценки микробного статуса пациентов с РЗ. Предложено определение носительства УПЭБ на слизистой оболочке носа в качестве информативного показателя наличия дисбиотических нарушений у пациентов. Сведения о преимущественной антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных у пациентов, создают основу для рационального применения антибиотиков у ревматических больных. Установлены наиболее значимые факторы, определяющие нарушения микробиоценоза организма при РЗ. К ним относятся активность заболевания у больных СКВ и РА, пожилой возраст и терапия ГИБП у больных РА, перенесенные КИ и постоянное применение НПВП у больных ОА.

Результаты исследования демонстрируют целесообразность использования методов коррекции микробного статуса у пациентов с факторами риска развития дисбиоза. Использование комбинации пре- и пробиотика при микробиологических нарушениях III степени позволяет оптимизировать лечение ревматических заболеваний.

**Соответствие содержания диссертации специальности, по которой  
она рекомендуется к защите**

Область исследования представленной диссертационной работы Гульневой Марины Юрьевны соответствует паспорту научной специальности 14.01.22 — Ревматология в пунктах 4, 6 паспорта ревматология: 4. Диагностические приемы с использованием клинко-иммунологических, клинко-биохимических (в том числе ферментативных) и клинко-функциональных тестов для уточнения поражений отдельных органов и систем при ревматических заболеваниях. Разработка оптимальных комплексных подходов с использованием патогенетической терапии с целью нормализации нарушенных функций. 6. Изучение прогноза ревматических заболеваний, рецидивов болезней в зависимости от вида и метода используемого лечения. Отработка наиболее оптимальных направлений в терапии.

**Внедрение результатов работы в практику**

Результаты работы внедрены в клиническую практику ревматологического отделения ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», терапевтических отделений ГБУЗ ЯО «Клиническая больница № 9» и ГБУЗ ЯО «Клиническая больница № 3». Основные 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. По материалам работы опубликовано учебное



пособие «Нормальная микрофлора организма и методы ее коррекции у ревматических больных» для студентов и врачей.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы представлены на V съезде ревматологов России (Москва, 2009); IX Северо-Западной научно-практической конференции по ревматологии (Санкт-Петербург, 2009); II Всероссийском конгрессе ревматологов России (Ярославль, 2011); VII Всероссийской конференции ревматологов России (Владимир, 2012); II Евразийском конгрессе ревматологов (Москва, 2014); Российско-китайской научно-практической конференции по медицинской и клинической микологии (Санкт-Петербург, 2015); II, III, IV, VI, VIII IX, X, XI Национальных [ конгрессах терапевтов (Москва, 2007; 2008; 2009; 2011; 2013 2014, 2015, 2016); VII съезде ревматологов России (Москва, 2017).

По теме диссертации опубликовано 59 печатных работах, в том числе две монографии, одно учебное пособие, 19 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования результатов диссертационного исследования, три работы в зарубежных изданиях, остальные работы - статьи и тезисы докладов в журналах и сборниках научных трудов.

### **Основные публикации по теме диссертации**

*В изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России*

1. Роль инфекционных факторов при ревматических заболеваниях / Н.П. Шилкина, **М.Ю. Гульнева** // Терапевтический архив. —2007. — № 12. — С. 83 – 86.
2. Микрофлора организма больных при системных заболеваниях соединительной ткани / В.А. Романов, Н.П. Шилкина, **М.Ю. Гульнева**, Д.В. Иванов // Вестник Российской Академии медицинских наук. — 2008. — № 4. — С. 10 – 14.

3. Микрофлора открытых биотопов у больных системной красной волчанкой / **М.Ю. Гульнева**, Н.П. Шилкина // Терапевтический архив. — 2008. — № 11. — С. 68 – 72.
4. Микробный биоценоз кишечника у больных системной красной волчанкой на фоне применения преднизолона / **М.Ю. Гульнева**, Н.П. Шилкина // Клиническая медицина. — 2009. — № 6. — С. 42- 45.
5. Факторы персистенции условно-патогенных микроорганизмов, выделенных у больных ревматическими заболеваниями / **М.Ю. Гульнева**, А.Ю. Кулибин, Э.В. Малафеева // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 9. — С. 45 - 47.
6. Микробный биоценоз толстой кишки при ревматоидном артрите / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков // Клиническая медицина. — 2011. — Т.89. — № 4. — С. 45 - 48.
7. Антитела к условно-патогенным бактериям у больных остеоартритом крупных суставов / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева // Вестник уральской медицинской академии наук. — 2011. — №2/1 (35). — С. 127-128
8. Микробиоценоз кишечника при ревматоидном артрите в пожилом возрасте / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева Е.Н. Шевьева // Клиническая геронтология. — 2011. — № 3-4. — С. 8 - 13.
9. Адгезивные свойства микроорганизмов, колонизирующих организм больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / **М.Ю. Гульнева**, В. А. Романов, Л. Н. Шитов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2011. — № 2. — С. 57-61.
10. Антитела к условно-патогенным бактериям у больных с ревматическими заболеваниями / А.Ю. Кулибин, **М.Ю. Гульнева**, В.А. Романов, Э.В. Малафеева // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 3. — С. 83 - 87.
11. Антитела к стафилококкам у больных ревматическими заболеваниями / **М.Ю. Гульнева**, Э.В. Малафеева, С.М. Носков // Вестник Уральской медицинской академической науки. — 2012. — № 4 (41). — С. 106 – 107.
12. Микробиоценоз кишечника при сочетании ожирения и остеоартрита / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева // Проблемы эндокринологии. — 2012. — № 3 (58) . — С.12 – 15.
13. Симптоммодифицирующие препараты медленного действия при остеоартрозе коленных суставов / С.М. Носков, К. Широкова, Т. Шерина, А.А. Заводчиков, И. Красивина, Т. Носкова, А.А. Лаврухина, **М.Ю. Гульнева** // Врач. — 2013. — №5. — С. 47-51



14. Условно-патогенные микроорганизмы в этиологии гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы / А.Е. Трифоненко, **М.Ю. Гульнева** // Вестник СПбГУ. — серия 11. — 2013. — вып. 2. — С. 115-120.

15. Антитела к условно-патогенным энтеробактериям у больных ревматическими заболеваниями / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева // Российский иммунологический журнал. — 2014. — том 8(17). — № 3. — С. 521-523.

16. Качество жизни и микробиоценоз кишечника больных ревматоидным артритом / **М. Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Т.С Носкова, Э.В. Малафеева // Архивъ внутренней медицины. — 2014. — № 4(18). — С. 17 – 20.

17. Формирование биоплёнок условно-патогенными микроорганизмами, выделенными у больных с ревматическими заболеваниями / Э.В. Малафеева, **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков С.М., В.А. Романов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2014. — № 11. — С. 53 – 55.

18. *Candida albicans* в микробиоценозах организма больных ревматоидным артритом. / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева // Проблемы медицинской микологии. — 2015. — Том 17. — № 2. — С. 63.

19. Оппортунистические микроорганизмы при ревматических заболеваниях / **М.Ю. Гульнева**, С.М. Носков, Э.В. Малафеева // Научно-практическая ревматология. — 2016. — том 54. — №1. — С. 100-104.

#### *Монографии*

20. Микрофлора открытых биотопов у больных ревматическими заболеваниями: монография / **М.Ю. Гульнева**, В.А. Романов, Н.П. Шилкина // Ярославль: Аверс Плюс, 2011. — 135 с.

21. Антибактериальные антитела при ревматических заболеваниях; Антитела к патогенным и сапрофитным бактериям: монография / В.А. Романов, **М.Ю. Гульнева**, А.Ю. Кулибин // Palmarium academic publishing. – Saarbrücken, 2012. —131 с.

#### *Статьи в иностранных журналах*

Formation of bacterial biofilms enterobacteriaceae, isolates from patients with rheumatoid arthritis / E.V. Malafeeva, **M.Y. Gulneva**, S.M. Noskov // International Journal Of Applied And Fundamental Research. — 2013. — № 2.

Opportunistic infections in rheumatoid arthritis patients during therapy with tocilizumab / E.V. Malafeeva, **M.Y. Gulneva**, S.M. Noskov // International Journal of applied and fundamental research. — 2014. — № 2.

