

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Чабан Тетяни Володимирівни на дисертаційну роботу
*Гусейнова Ельчина Мамед огли «Клініко-епідеміологічна
характеристика, лікування та прогноз гострого бруцельозу»*,
подану до спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04 при
Вінницькому національному медичному університеті
ім. М. І Пирогова на здобуття наукового ступеня доктора
медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби

Актуальність обраної теми

Епідемічна і епізоотична ситуація щодо бруцельозу в світі сьогодні залишається достатньо напруженою. Внаслідок чого це інфекційне захворювання являє собою складну і актуальну соціально-економічну проблему для багатьох країн. Останнє десятиріччя минулого століття характеризувалося значним збільшенням випадків бруцельозу у результаті соціально-економічних змін у країнах колишнього СНД, утворення індивідуальних, фермерських, акціонерних господарств із реалізацією сільськогосподарських тварин і тваринницьких продуктів. Цьому сприяло також й послаблення санітарно-ветеринарного нагляду за ввозом тварин із країн, які є неблагополучними щодо бруцельозу. Слід підкреслити також й активізацію старих і виникнення нових вогнищ бруцельозу, а як результат – зростання захворюваності населення на цю інфекцію.

Еволюція бруцельозу в сучасних умовах відбувається у бік збільшення частоти гострих випадків з ранішнім розвитком метастатичних і інфекційно-алергічних уражень, які обтяжують перебіг хвороби, що свідчить про ранішній розвиток сенсibiliзації у хворих в ендемічному регіоні вже під час гострої стадії інфекційного процесу. Поряд з цим спостерігається й більш ранішнє ураження опорно-рухового апарату (в перші 2-3 місяці від початку захворювання), а також частіше ураження судин (склерит, кон'юнктивіт, позитивний симптом джгута та ін.), що обумовлюється ранішньою алергічною перебудовою організму хворих.

Соціальним аспектом проблеми являється захворювання осіб молодого працеспроможного віку, збільшення кількості осіб, професійно не пов'язаних із тваринництвом. Особливістю сучасної ситуації щодо бруцельозу є той факт, що до 50,0% інфікованих людей реєструються у господарствах (пунктах), офіційно вільних від бруцельозу сільськогосподарських тварин.

На території України існують також потенційні ризики виникнення захворювання людей та сільськогосподарських тварин, джерелом інфекції в цих випадках можуть слугувати дикі та синантропні тварини, механічним переносником збудника – кровосисні комахи.

Бруцельоз – це захворювання, яке характеризується значним різноманіттям клінічних проявів, що стає все більш і більш очевидним в міру розробники і клінічного використання сучасних методів діагностики. Саме це актуалізує дану проблему з урахуванням особливостей сучасної епідеміологічної ситуації і поширеності бруцельозу в світі. Це системне захворювання, при якому можливе ураження різних органів і систем, що зумовлено особливостями патогенезу – наявністю бактеріємії при гострому бруцельозі, та ендотоксикозу і системного запалення із залученням кістково-суглобової, серцево-судинної, сечостатевої, нервової, ендокринної систем, значним зниженням якості життя хворого.

Відомо, що тривала персистенція бруцел супроводжується вираженою імунологічною перебудовою організму з розвитком таких імунопатологічних реакцій, як гіперчутливість уповільненого типу і підвищення рівнів імунних комплексів, які можуть лежати в основі таких клінічних проявів, як гломерулонефрити, гепатити, артрити, шкірні васкуліти. Даний аспект патогенезу є важливим для розуміння механізмів розвитку можливих незвичайних проявів бруцельозної інфекції на різних стадіях процесу.

В патогенезі бруцельозу значне місце посідає імуноалергічний компонент. При цьому особливе значення приділяється цитокінам, які є важливим компонентом імунопатогенезу бруцельозу, виконуючи

протективну роль шляхом активації як природної так й адаптивної імунної відповіді.

Бруцельоз характеризується дисбалансом клітинного та гуморального імунітету, при якому відбувається зниження показників Т- і В-клітинної ланки імунітету, що супроводжується активацією імуноглобулінів (А, М, G) та істотними порушеннями цитокінової регуляції у вигляді підвищення прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6) та TLR-2. При гострому бруцельозі на тлі комбінованого імунодефіциту відзначені істотні порушення цитокінової регуляції у вигляді статистично значущого збільшення про- (IL-1 β , IL-6) та протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10), а також достовірного зниження γ -інтерферонів, що свідчить про розвиток запального процесу. За допомогою цитокінів реалізується широка взаємодія на субклітинному, клітинному, органному, системному рівнях, формування комплексної захисної реакції, спрямованої на нейтралізацію патогенних агентів, їх руйнування, елімінацію з організму, збереження його структурної і функціональної цілісності. В організмі цитокіни тісно взаємодіють між собою, утворюють універсальну комунікаційну біологічну мережу, яка запускає і регулює цілий каскад запальних, імунних, метаболічних процесів. Тривалий, підвищений синтез цитокінів може стати, фактором прогресування патологічного процесу, надаючи пряму шкідливу дію на клітини і тканини, індукуючи альтерацію, порушення цілісності судинної стінки, посилення і хронізації запального процесу. Комплексна оцінка цитокінового статусу і білків гострої фази запалення дозволяє отримати цінну інформацію для моніторингу ефекту терапії гострого бруцельозу.

Залишається проблемою рання діагностика і виявлення бруцельозу у людей, яка багато в чому визначається скороченням лабораторного скринінгу на бруцельоз, професійно пов'язаних з ризиком зараження бруцельозом, а також збільшенням частки хворих, які не пов'язані з громадським тваринництвом. У той же час своєчасно поставлений діагноз, а також

адекватна терапія дозволять уникнути хронізації інфекції та стійкої втрати працездатності.

Незважаючи на чисельні дослідження, питання лікування хворих на бруцельоз залишаються дискусійними й сьогодні не мають однозначного вирішення.

Тому, тема дисертаційної роботи Гусейнова Ельчина Мамед огли є актуальною, присвячена вирішенню важливого питання сучасної інфектології, а саме удосконаленню діагностики, прогнозуванню перебігу і ефективності лікування хворих на гострий бруцельоз, що має наукове і практичне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є частиною комплексної науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету ім. М. І Пирогова МОЗ України «Особливості перебігу вірусних і бактеріальних інфекцій в залежності від генетичних і метаболічних факторів» (№ держ. реєстрації 0104U003552).

Наукова новизна досліджень

Результати проведених досліджень дозволили дисертанту розширити існуючі наукові дані про епідеміологічні особливості поширення гострого бруцельозу на підставі вивчення гендерних, вікових, професійних і сезонних особливостей перебігу хвороби в Республіці Азербайджан. Доповнено дані щодо клінічних проявів гострого бруцельозу.

Вперше встановлено особливості розвитку ураження серцево-судинної і гепатобіліарної систем при гострому бруцельозі з урахуванням віку, статі, імунологічних показників хворих. Проведене ретельне дослідження серцево-судинної системи у хворих на гострий бруцельоз дозволило автору довести, що у переважної кількості хворих (77,5 %) спостерігаються як порушення реполяризації та зменшення фракції викиду міокарда нижче 50-60 %, так й провідної системи серця, що потребують підвищення ефективності

існуючого лікування. Показано, що підвищення активності показників цитолізу гепатоцитів (АлАТ і АсАТ) частіше відзначається у чоловіків, ніж у жінок з бруцельозом.

Автором вперше вивчено поширеність поліморфізму генів цитокінів IL-4, IL-6, а також TLR-4 і TLR-2 залежно від ступеня тяжкості перебігу гострого бруцельозу. Доведено, що у носіїв гетерозиготного генотипу C/T гена IL-4 (C-589T) частіше розвивається захворювання, ніж у носіїв гомозиготного генотипу C/C. Показано асоціацію гомозиготного генотипу C/C гена IL-4 і гомозиготного генотипу G/G гена IL-6 із легким перебігом хвороби. За умов тяжкого перебігу гострого бруцельозу частіше спостерігався генотип G/C і гомозиготний генотип Gln/Gln гена TLR-2. Отримані результати дозволили автору зробити висновок про захисний ефект гомозиготних генотипів C/C гена IL-4, G/G і A/A щодо розвитку гострого бруцельозу.

Вперше встановлено предиктори ураження серцево-судинної і гепатобіліарної системи у хворих на гострий бруцельоз залежно від поліморфізму генів IL-4, IL-6, TLR-4 і TLR-2. Так, доведено, що носійство генотипу T/T і поліморфного C/C гена IL-6 асоціюються із ризиком ураження печінки у хворих на гострий бруцельоз, а генотипу A/G гена TLR-4 і мутантного генотипу Gln/Gln гена TLR-2 – із ураженням серцево-судинної системи.

На підставі ретельного сучасного статистичного дослідження автором доповнено дані, що торкаються ефективності призначених схем лікування хворих. Проаналізовано динаміку клінічних проявів, біохімічних і імунологічних показників. Вперше за допомогою багатофакторного аналізу коваріацій (MANCOVA) встановлено, що поліморфізми Arg/Gln і Arg/Arg гена TLR-2 порівняно з Gln/Gln сприяють швидшому відновленню ШЗЕ, рівня СРБ, активності АлАТ, вмісту IL-6, TLR-4 і TLR-2 у сироватці крові хворих на гострий бруцельоз.

Практичне значення результатів дослідження

З метою ранішньої діагностики розвитку можливих ускладнень, автором висвітлена необхідність ретельного обстеження серцево-судинної і гепатобіліарної систем у хворих на гострий бруцельоз, що дозволяє своєчасно призначити ефективне лікування.

Обґрунтовано включення до діагностичного алгоритму обстеження хворих визначення поліморфізму генів IL-4, IL-6, TLR-4 і TLR-2 як предикторів тяжкого перебігу хвороби і можливого розвитку ускладнень з боку серцево-судинної і гепатобіліарної систем у хворих з бруцельозом.

Результати дисертаційної роботи Гусейнова Ельчина Мамед огли можуть бути використані у практичній медицині, а саме лікарями інфекційних відділень багатoproфільних лікарень, лікарями сімейної медицини, кардіологами, іншими спеціалістами з метою ранішньої діагностики гострого бруцельозу, визначення перебігу хвороби, розвитку ускладнень, призначення адекватного лікування.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, мета роботи

Дисертація написана за класичним стилем, на доброму науковому рівні. Робота складається зі вступу, огляду літератури, загальної характеристики хворих, методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Робота добре ілюстрована 71 таблицею та 29 рисунками, що значно спрощує її сприйняття.

У *Вступі* наведено дані про актуальність теми дослідження, сформульовано мету і завдання дослідження, представлена наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, відзначено особистий внесок здобувача, наведено дані щодо апробації роботи і публікації результатів досліджень.

Огляд літератури побудований на аналізі й узагальненні вітчизняних і закордонних джерел, складається з 4 підрозділів, у яких автором представлено епідеміологічну характеристику бруцельозу як у світі, так й у Республіці Азербайджан. Показано, що бруцельоз належить до ендемічних зоонозних інфекцій, поширений переважно серед професійних груп людей. Підкреслено високу ендемічну небезпеку хвороби, її соціально-медичне значення.

Автором наведено дані про поліморфізм клінічної картини гострого бруцельозу, розвиток можливих ускладнень і формування хронічного перебігу з подальшою інвалідизацією, що значно погіршує якість життя хворих.

Проведено ретельний аналіз існуючих різноманітних уявлень про патогенез бруцельозу. Детально висвітлено імуно-алергічний компонент, дисбаланс у системі цитокінів, поліморфізм IL-4, IL-6, TLR-4 і TLR-2, а також невирішені питання патогенезу.

Підкреслено, що незважаючи на певні успіхи, питання лікування бруцельозу залишається дискусійним і потребує подальшого вивчення, особливо за умов тяжких або ускладнених форм хвороби.

Закінчується розділ коротким логічним резюме. Автор обґрунтував обраний напрямок дослідження, який є актуальним на даному етапі й спрямований на удосконалення діагностики і підвищення ефективності лікування хворих на гострий бруцельоз.

У розділі **Дизайн, матеріали та методи дослідження** представлено клінічну характеристику обстежених хворих і методи, які використовувалися при проведенні дослідження. Під час виконання дослідження, у період 2012-2018 рр., дисертантом обстежено 178 хворих, які зверталися за допомогою у лікувальні заклади міста Баку. Основну групи склали 120 хворих на гострий бруцельоз, етнічних азербайджанців, які повністю відповідали критеріям включення у дослідження. При встановленні діагнозу гострий бруцельоз

автор враховував дані епідеміологічного анамнезу, тривалість основних клінічних прояв (не більше 3 місяців після появи перших типових скарг у хворих), результати імуноферментного дослідження (наявність специфічних Ig M), збільшення титру антитіл у реакції Райта. Проведений ретельний аналіз статево-вікових особливостей хворих на гострий бруцельоз, результатів об'єктивного обстеження, наведені дані загального аналізу крові, окремих біохімічних показників. Клінічна характеристика хворих викладена ретельно, великий фактичний матеріал добре систематизований.

Наведено характеристику і опис лабораторних, інструментальних, серологічних, молекулярно-біологічних, статистичних методів, які використовувались у ході виконання роботи. Методи дослідження обрані правильно, є сучасними та інформативними.

Розділ 3 *Особливості ураження серцево-судинної і гепатобіліарної системи у хворих на гострий бруцельоз* складається з двох підрозділів. Автором показано, що ураження печінки у 43 хворих перебігало переважно у вигляді гострого гепатиту різного ступеня тяжкості, що підтверджено наведеними результатами клінічного обстеження, даними біохімічного і ультразвукового дослідження. У більшості хворих відзначено підвищення маркерів цитолізу гепатоцитів, а саме активацію АлАТ, АсАТ і ЛДГ разом із ознаками запалення – прискорення ШЗЕ, наявність лейкоцитозу і збільшений рівень СРБ. При УЗД органів черевної порожнини у переважної більшості хворих на гострий бруцельоз спостерігали гепато- та спленомегалію (у 12 і 4,8 разів частіше, ніж у здорових). У двох хворих спостерігали об'ємні процеси – кіста печінки, абсцес селезінки. Автором встановлено, що прояви артралгічного синдрому, зниження апетиту і маси тіла частіше спостерігали у хворих із ознаками ураження печінки, в той час як у хворих без ураження гепатобіліарної системи переважали жалоби на гарячку і загальну слабкість (90,9 % і 83,1 % відповідно). Підрозділ проілюстрований клінічним випадком.

Ознаки ураження серцево-судинної системи у вигляді жалоб на напади серцебиття, кардіалгію, задишку, виявлення ослаблення тонів серця, гіпотонії відзначено у 93 (77,5 %) хворих на гострий бруцельоз при проведенні рутинного клінічного обстеження. Автором зазначено, що найбільш уразливою була група хворих віком старше 45 років. Отримані електрокардіографічні показники свідчили про порушення функціонування провідної системи серця - зміни автоматизму, збудливості, що розцінено як підґрунтя для виникнення аритмій у хворих. При проведенні ЕхоКГ спостерігали збільшення лівих відділів серця, порушення діастолічної, систолічної функції, підвищення тиску у легеневій артерії, що розцінено як несприятлива ознака. Дисертант справедливо наполягає на тому, що виявлені порушення потребують подальшого спостереження фахівців. Підрозділ проілюстрований клінічним випадком.

Розділ 4 *Поширеність поліморфізмі IL-4 та IL-6 у хворих на гострий бруцельоз та їх взаємозв'язок з рівнями IL-4 та IL-6 в сироватці крові* складається з 6 підрозділів, у яких досліджено гетерозиготні та гомозиготні генотипи IL-4 та IL-6 та вміст означених цитокінів. Автором доведено, що носійство алелі Т поліморфного (С589Т) гена IL-4 слід розглядати як фактор можливості розвитку гострого бруцельозу. Гомозиготний генотип С/С частіше спостерігався у хворих з легким перебігом гострого бруцельозу і розцінено як протективний показник, а генотип Т/Т – свідчить, навпаки, про тяжкий перебіг хвороби. До того ж встановлено, що серед носіїв генотипу Т/Т гена IL-4 частіше спостерігалися ураження печінки; серед носіїв генотипу С/Т – ураження серцево-судинної системи. Комбінація означених генотипів також частіше спостерігалася у хворих на гострий бруцельоз, що перебігав із ураженням серцево-судинної системи, що на думку дисертанта, можна розглядати у якості предикторів розвитку ускладнень у хворих.

Генотип G/C поліморфного гена IL-6 знаходили в 2,8 разів частіше у хворих з тяжким перебігом гострого бруцельозу, що супроводжувався ураженням гепатобіліарної системи, в той час як гомозиготний генотип G/G розглядається як протективний для виникнення означеного ураження.

Розділ 5 *Поширеність поліморфізмів TLR-4 та TLR-2 у хворих на гострий бруцельоз та його взаємозв'язок з рівнями TLR-4 та TLR-2 в сироватці крові* складається з 6 підрозділів, добре ілюстрований таблицями і рисунками. У цьому розділі дисертантом представлені результати ретельного дослідження поліморфних генів TLR-4 та TLR-2, доведено, що у носіїв алелі G поліморфного гену TLR-4 ризик захворювання на гострий бруцельоз значно вищий, ніж у носіїв алелі A і вищий ризик виникнення ураження печінки і серцево-судинної системи. Гомозиготний варіант генотипу A/A асоціювався з легким перебігом гострого бруцельозу без ознак ураження печінки. Тобто, носійство гомозиготного генотипу A/A свідчить на користь проєктивного ефекту щодо розвитку гострого бруцельозу і ускладнень з боку серцево-судинної і гепатобіліарної систем. Відзначено підвищення рівня TLR-4 у сироватці крові хворих, що на думку автора, свідчить про активацію TLR-4 у відповідь на втручання збудника бруцельозу.

Також носійство алелі Gln поліморфного гена TLR-2 дисертантом розцінено як підвищений ризик захворювання на гострий бруцельоз із тяжким перебігом і ураженням печінки. Носійство генотипу Arg/Gln і мутантного гомозиготного генотипу Gln/Gln слід розглядати як генетично детерміновані предиктори розвитку ураження серцево-судинної системи при гострому бруцельозі.

Розділ 6 *Прогноз виникнення ускладнень з боку гепатобіліарної та серцево-судинної системи у хворих на гострий бруцельоз*. Під час розробки конструкції прогностичної моделі автор зіткнувся із певними труднощами, обумовленими наявністю патогенетичних зв'язків між ризиками виникнення ускладнень і з боку гепатобіліарної, і з боку серцево-судинної систем. Тому

через можливість спільності ризику коваріацій обох ускладнень була використана біваріативна пробіт модель. При проведенні дослідження встановлено відсутність кореляції між ризиками виникнення означених ускладнень. Встановлено зниження ризику виникнення ускладнень з боку серцево-судинної системи у хворих при поліморфних варіантах гену TLR-4 серед носіїв генотипу A/A проти носіїв генотипу G/G, носіїв генотипу G/C проти носіїв генотипу C/C гену IL-6. У таких хворих відзначали й підвищення вмісту IL-6. Ризик виникнення ураження печінки також був вищим у носіїв генотипу C/C, ніж у носіїв генотипу G/C гену IL-6.

Розділ 7 присвячений *Ефективності різних схем терапії гострого бруцельозу*. Встановлено позитивний вплив призначеної терапії на динаміку основних лабораторних показників хворих на гострий бруцельоз у вигляді відновлення ШЗЕ, зниження активності АлАТ, АсАТ і ЛДГ. Також відзначено зниження вмісту IL-4 та IL-6, TLR-4 та TLR-2 у хворих до відповідних фізіологічних рівнів. Досліджено ефект лікування із використанням доксицикліну і рифампіцину та доксицикліну і стрептоміцину у хворих на гострий бруцельоз без ускладнень та із розвинутими ускладненнями з боку серцево-судинної і гепатобіліарної систем. У результаті проведеного аналізу із використанням 11 індикаторів гострого перебігу бруцельозу встановлено, що обидві схеми лікування мали схожий результат у вигляді одужання хворих. Серед пре дикторів динаміки одужання хворих використовували індивідуальні характеристики хворих і характеристики процесу лікування, ряд з яких був визначений як типологічні або безперервні. Визначені особливості надали можливість використання багатфакторного аналізу коваріацій (MANCOVA).

У розділі *Аналіз і узагальнення отриманих результатів* автором проведено оцінку результатів власних досліджень, визначено їх патогенетичне, клінічне значення, співставлено із сучасними літературними даними.

Наукові положення і висновки дисертації логічно виходять з результатів проведених досліджень, аргументовані, відповідають поставленим завданням і мають наукову новизну. Висновки та рекомендації не суперечать один одному, ґрунтуються на результатах проведених досліджень та логічно пов'язані з отриманими даними. Практичні рекомендації доступні для використання.

Повнота викладу основних результатів дисертації

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 29 наукових праць: 21 стаття у наукових спеціалізованих виданнях (з них 2 – у журналах наукометричної бази «SCOPUS», 8 - у наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 10 - у закордонних наукових виданнях), в т.ч. 18 одноосібних, а також 8 тез у матеріалах науково-практичних конференцій.

Основні положення дисертаційної роботи широко обговорювалися на науково-практичних конференціях

Матеріали, представлені в авторефераті, повністю відтворюють зміст дисертації.

Зауваження:

принципових зауважень та заперечень до представленої дисертаційної роботи немає. В роботі є окремі друкарські помилки та стилістичні погрішності. На наш погляд, висновки перевантажені інформацією. Перший висновок носить описовий характер.

Вказані зауваження не є принциповими, не занижують загального позитивного враження від дисертації і не мають суттєвого значення.

В якості дискусії хотілось би отримати також пояснення автора на наступні запитання:

- Чи спостерігали Ви відмінності частоти визначення основних клінічних прояв гострого бруцельозу у жителів Республіки Азербайджан від описаних у літературних джерелах?

- Чому у дисертаційне дослідження включали визначення

поліморфізму саме IL-4 і IL-6? Чим можна пояснити зміну вмісту означених цитокінів у хворих на гострий бруцельоз?

- На Ваш погляд, чи не сприяло частішому розвитку ураження печінки використання у якості засобів етіотропної терапії комбінації доксициклін+рифампіцин?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Гусейнова Ельчина Мамед огли на тему: «Клініко-епідеміологічна характеристика, лікування та прогноз гострого бруцельозу», яка виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова (науковий консультант - завідувач кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології, д. мед. н, професор Лариса Василівна Мороз) є самостійним, завершеним науковим дослідженням, що стосується удосконалення діагностики, прогнозування перебігу і ефективності лікування хворих на гострий бруцельоз, має наукове і практичне значення.

За своєю актуальністю, комплексністю обраної теми, науковою та практичною значимістю результатів проведених досліджень дисертаційна робота відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 року; № 1159 від 30.12.2015 року та № 567 від 27.07.2016 р.) щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби.

Офіційний опонент
Завідувач кафедри інфекційних
хвороб Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор


