

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

эксперта диссертационного совета Д 03.23.685 при Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К.Ахунбаева и Кыргызском государственном медицинском институте переподготовки и повышения квалификации им. С.Б.Даниярова
д.м.н., доцента Койбагаровой А.А. на диссертацию Джумабаевой Салтанат Муқановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология,

1. Соответствие работы специальности, по которой дано право диссертационному совету принимать диссертации к защите.

Кандидатская диссертация Джумабаевой С.М. на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» соответствует профилю диссертационного совета.

В настоящей работе были изучены следующие актуальные вопросы:

- 1) лекарственная резистентность трихомонад к терапии метронидазолом;
- 2) механизм резистентности, пути ее преодоления с применением КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозотетрайодида калия).
- 3) механизмы адаптивного иммунитета при острой и хронической формах трихомониаза

Представленные результаты по содержанию отвечают требованию паспорта специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология биологические науки, 03.02.03 -микробиология (п. 2, 3, 4, 5)

2. Цель диссертационного исследования

Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Поставленная цель достигнута решением в диссертации следующих задач:

- изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.

- изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.
- провести мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучить эффект совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* шахматной доски.

Объект исследования: антибиотикорезистентность как процесс, затрагивающий все больший спектр микроорганизмов, создающий в результате проблемы с состоянием системы иммунитета, проблемы с возможностью успешного лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Предмет исследования: антибиотикорезистентность *T.vaginalis*, методы выявления резистентности к противопротоzoйным препаратам, анализ причин, пути преодоления резистентности.

По объему работы и методологическим аспектам представленная диссертационная работа соответствует специальности: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 - микробиология биологические науки.

Оценку иммунного статуса проводили по состоянию адаптивного иммунитета методом проточной цитометрии.

Состояние клеточного звена иммунитета оценивали по характеристике популяций лимфоцитов: Т-лимфоциты ($CD3^+$); Т-хелперы/индукторы ($CD4^+$); Т-супрессоры/цитотоксические ($CD8^+$); В-лимфоциты ($CD19^+$), ИРИ ($CD4^+/CD8^+$) на автоматическом проточном цитометре FACS Calibur фирмы «Becton Dickinson» (США), набора моноклональных антител фирмы «Becton Dickinson». Выборку проводили при подсчете 10000 клеток.

Кровь для исследования брали из вены в количестве 3-5 мл в пробирку с раствором гепарина в смеси со средой Хенкса, обрабатывали моноклональными антителами определенной специфичности и инкубировали в течение 15 мин, а затем подвергали их трехкратной отмывке PBS (фосфатно-солевым буфером), центрифугировали при 2100 оборотах в мин, в течение 5 мин. Для стабилизации клеточных мембран использовали фирменный фиксирующий раствор Cell Fix фирмы «Becton Dickinson».

Определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов всех классов проводили методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини.

Сыворотку крови пациентов разводили в зависимости от требуемой концентрации для каждого класса используемых иммуноглобулинов, через сутки определяли диаметр диффузии в агаре и рассчитывали концентрацию по специальной шкале. Результаты оценивали с помощью соответствующего программного обеспечения.

Определение чувствительности. Чувствительность трихомонад к метронидазолу *in vitro* оценивали методом серийных разведений, с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Использовали субстанцию метронидазола фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

Для определения совместного действия КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола применяли метод *Checkenboard* («шахматной доски»). Для этого в 96-луночном полистероловом планшете сверху вниз готовится разведение препарата А. По горизонтали готовится разведение препарата В. Добавляется суспензия культуры и инкубируется при 37⁰С, в течение 3-5 дней. Затем производится высеv на свежие питательные среды.

Все вышеперечисленное соответствует требованиям к исследованию по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03 – микробиология.

Актуальность темы диссертации. Трихомониаз является самым распространенным заболеванием мочеполового тракта, занимая первое место среди заболеваний, передаваемых половым путем (ИППП). В мире ежегодно регистрируется около 200 млн. случаев трихомониаза.

По литературным данным установлено, что возраст женщин, больных трихомониазом колебался в пределах 18-39 лет, мужчин – 15-39 лет. Эти данные согласуются с общемировой тенденцией – болезнь чаще регистрируется у населения, ведущего активную половую жизнь.

Другая проблема здравоохранения связана с растущей лекарственной устойчивостью микробов к антибиотикам. Трихомонады тоже не исключение, что и является проблемой при лечении хронических форм болезни.

У трихомонад имеются особенности, связанные с изменением их морфологии, физиологических свойств, особенностью генома.

В трихомонадах нет настоящих митохондрий, а есть их аналоги – гидрогеносомы, выполняющие многие аналогичные метаболические функции. Развитие устойчивости *T. vaginalis* к препаратам группы метронидазола – многоступенчатый процесс, основанный на постепенном снижении (вплоть до утраты) активности гидрогеносомальных ферментов и/или нарушением метаболических флавинов-зависимых путей.

Трихомонады хорошо адаптированы к существованию в организме человека: могут менять форму, маскироваться под клетки плазмы крови (тромбоциты, лимфоциты) - что затрудняет диагностику трихомониаза; «цеплять» на себя других микробов и таким способом уклоняться от иммунной атаки организма.

Микроорганизмы (гонококки, уреаплазмы, хламидии, грибы рода кандиды, вирусы герпеса, цитомегаловирус), попадая внутрь трихомонад, находят там защиту от действия лекарств и иммунной системы человека. Подвижные трихомонады могут разносить других микробов по мочеполовой системе и по кровеносным сосудам. Повреждая эпителий, трихомонады

снижают его защитную функцию, и облегчают проникновение микробов и вирусов, передающихся половым путем (включая ВИЧ).

В связи с этим трихомониаз продолжает оставаться актуальной и приоритетной проблемой для врачей многих специальностей – дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов, что обуславливается как большой распространенностью, так и значительным количеством тяжелых осложнений.

Роль гуморального и клеточного иммунитета при возникновении резистентности и длительного нахождения микробов в организме, например при хронических формах трихомониаза недостаточно изучена.

С учетом вышеуказанного, необходимо заключить, что данное научное исследование представляется весьма актуальным и социально значимым.

3. Научные результаты.

В работе представлены следующие новые научно-обоснованные теоретические результаты, которые имеют немаловажное значение для развития диагностической медицины и информационную и методологическую платформу для решения вопросов разработки новых лекарственных препаратов.

3.1. Научно-обоснованные результаты являются новыми и получившими дальнейшее развитие.

Результат 1, получивший дальнейшее развитие. Имеют место нарушения показателей адаптивного иммунитета выявлены у РС с трихомонадной инфекцией, характеризующиеся наличием супрессии в Т-клеточном звене иммунной системы и дисбалансе гуморального иммунитета. Причем изменения более выражены у РС при хронизации трихомонадной инфекции.

Результат 2. Новый метод определения синергизма КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метронидазола методом Cheserboarde «шахматной доски» и значением фракциональной ингибирующей концентрации 0,5 и ниже, показал перспективность применения комбинации этих препаратов, т.е. появляется методологическая основа для получения новых препаратов, которые позволят преодолевать лекарственную устойчивость данных микробов.

Результат 3. Впервые предложенный способ применения метода ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии) - метода аналитической химии для определения внутриклеточного содержания метронидазола, что позволил установить, что устойчивость выделенных штаммов трихомонад связана не с модификационной изменчивостью, а с нарушением внутриклеточных ферментных систем, локализованных в гидрогеносомах.

3.2. Степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения, сформулированных в диссертации соискателя.

Результаты исследований базируются на достаточном материале (обследовано 289 женщин, включая основную и контрольную группу), по достоверности не вызывают сомнений. Диссертантом использовались современные методы исследования с высокой диагностической эффективностью. Верифицированные результаты получены при сравнительном анализе показателей в разных группах обследуемых. Материал исследования с качественными и количественными показателями статистически обработан с использованием методов вариационной статистики.

3.3. Теоретическое значение работы

Полученные данные можно использовать для совершенствования лабораторной диагностики по выявлению микст урогенитальных инфекций, а также для определения прогноза и тактики лечения.

Существенные изменения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией касаются всех изученных показателей и более выражены у лиц с хроническим течением инфекционного процесса.

Совместное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраидида калия) и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, что создает методологическую основу для совершенствования лечения.

3.4. Соответствие квалификационному признаку

Диссертация посвящена решению актуальной и социально значимой проблемы в области инфекционной патологии, а именно: совершенствованию диагностики и тактики лечения, особенно в сфере лекарственной устойчивости и изучению иммунных сдвигов при инфекциях с использованием стандартизированных иммунологических методик.

4. Практическая значимость полученных результатов

Полученные результаты соответствуют основным стратегиям в медицине: совершенствованию диагностики и лечения.

Установленные изменения в иммунном статусе у РС с трихомонадной инфекцией позволят практическому здравоохранению рекомендовать более углубленное лабораторное обследование с изучением иммунной реактивности лиц, страдающих УГТ с целью коррекции выявленных нарушений.

Полученные результаты по совместному определению синергизма метронидазола и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраидида калия) методом Chessboard «шахматной доски» показал перспективность применения комбинации этих препаратов. По результатам исследования оформлены акты внедрения.

5. Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат и диссертация по содержанию и структуре полностью идентичны и оформлены в соответствии с Инструкцией по оформлению диссертации и автореферата.

6. Замечания и вопросы:

1. Почему не применяли ПЦР диагностику для выявления урогенитальных инфекций? В настоящее время это метод №1 в диагностике практически всех инфекций.
2. Почему не были изучены другие препараты из группы 5 нитроимидазолов? Хотя метронидазол до сих пор является препаратом номер №1 в лечении трихомониаза и во всех клинических протоколах по лечению трихомониаза присутствует.
3. Почему для изучения трихомонад были обследованы РС? Кто были РС, откуда?
4. Как проводилась диагностика сифилиса? Какими методами?
5. У Вас 3 акта внедрения. 1 Акт внедрения от бактериологической лаборатории РЦВД г. Бишкек. Да сейчас наша бактериологическая лаборатория совершенствует свою работу, расширяет спектр методов исследования.

7. Предложения

Продолжить исследования по изучению лекарственной устойчивости трихомонад к препаратам 5-НИ, изменению местного иммунитета при трихомониазе, что даст возможность перспективы получения эффекта при коррекции местных иммунных нарушений.

8. Рекомендации. Назначить в качестве ведущей организации Казахский государственный университет им. Аль-Фараби, г.Алматы, где имеются доктора наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03. - микробиология, для квалифицированной оценки рассматриваемой диссертации.

В качестве официальных оппонентов назначить: д.б.н., доцента Ратникову Ирину Александровну и к.б.н., доцента. Тюмонбаеву Насиру Бектурсуновну.

Публикации оппонентов:

1. Доклинические испытания пробиотического лекарственного препарата для лечения кишечных инфекций человека/ А.Д. Масирбаева, А.К. Саданов, Б.Б. Баймаханова, И.А. Ратникова // Микробиология и вирусология. - 2025. - №1 (48). - С. 269 - 275.

2. Туберкулез и пробиотические лекарственные средства против туберкулеза./ И. А. Ратникова, А. К. Саданов, Э. Н. Намаз, и др. [Текст] // Микробиология и вирусология. – 2025. - №1 (48). – с. 80 - 90. doi:10.53729/MV-AS.2025.01.04.

3.Собуров К.А., Вишневский А.А., Тюмонбаева Н.Б. Показатели иммунного статуса и перекисного окисления липидов в условиях горной среды и дефицита селена. [Текст] /К.А.Собуров, А.А.Вишневский, Н.Б.Тюмонбаева // Ульяновский медико-биологический журнал. 2014 - № 3, - с. 88 - 92.

4. Тюмонбаева Н.Б., Казыбекова А.А., Абрамова И.А., Вишневский А.А., Изменения Т-звена иммунитета у горцев в зависимости от длительности проживания в низкогорье. [Текст] / Н. Б. Тюмонбаева, А.А. Казыбекова, И.А. Абрамова, А.А. Вишневский, //Известия НАН КР. – 2022. - №6. – с.99 – 102.

9. Заключение. Диссертационная работа Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ» является индивидуальным научно квалифицированным трудом и соответствует паспорту специальностей 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, 03.02.03. - микробиология.

10. Эксперт диссертационного совета, рассмотрев представленные документы, рекомендует диссертационному совету Д 03.23.685 при КГМА им. И.К.Ахунбаева принять к защите диссертацию Джумабаевой Салтанат Мукановны на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03 – микробиология.

Эксперт ДС Д 03.23.685,
д.м.н, доцент

Койбагарова А.А.

Подпись эксперта заверяю:

Ученый секретарь диссертационного совета
к.м.н., доцент

