

ВІДЗИВ

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри оториноларингології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, Дєєвої Юлії Валеріївни, на дисертаційну роботу Тинітовської Оксани Іванівни на тему: «Клініко-імунологічне дослідження ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії», яка виконана в Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького, і подана в спеціалізовану вчену раду Д 26.611.01 в ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.01.19 – оториноларингологія.

Актуальність обраної автором теми. Високі показники захворюваності населення на хронічний тонзиліт, дискусії щодо лікування даного захворювання, складні механізми взаємодії макро- і мікроорганізмів зумовлює постійний пошук нових підходів до лікування та профілактики хворих на хронічний тонзиліт.

Застосування мукозальних вакцин є сферою досліджень багатьох фахівців, оскільки вони здатні викликати місцеву та системну імунну відповідь, забезпечувати достатній захисний рівень імунітету в поєднанні зі слабкою алергенністю; та незначна кількість протипоказань, в порівнянні з усіма давно відомими схемами лікування. Ефективність самої вакцинації пацієнтів часто є пов'язана з станом реактивності організму, також є дані про те, що ефективність мукозальних вакцин залежить як від складу, так і від способу введення.

Вирішення вищевказаних питань визначила актуальність даного дослідження щодо з'ясування змін стану лімфоглоткового кільця до та після мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертація Тинітовської О.І. на тему: «Клініко-імунологічне дослідження ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії» ґрунтується на достовірному і статистично достатньому матеріалі – результатах обстеження 150 осіб: хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії (терміном до двох років), та контрольної групи.

Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз джерел наукової літератури, здійснено загально-клінічне обстеження пацієнтів, лікування та спостереження хворих, збір біологічного матеріалу, здійснено систематизацію матеріалу, аналіз результатів клініко-інструментальних, лабораторних, імунологічних, бактеріологічних досліджень, інтерпретацію та статистичну обробку отриманих результатів, сформовано основні теоретичні та практичні положення дисертації, що виносяться на прилюдний захист.

Використані в дисертації методи дослідження відповідають поставленим завданням, вони є сучасними та інформативними. Статистична обробка отриманого наукового матеріалу проведена коректно, що показує достовірність отриманих результатів. Назва дисертації відповідає її змісту, головні наукові положення дисертаційної праці, висновки і практичні рекомендації логічно витікають з матеріалів роботи, базуються на фактичних даних. Вони обґрунтовані, містять нові наукові та практичні узагальнення та є логічним підсумком проведених наукових досліджень.

Достовірність і новизна отриманих результатів.

Отримані в роботі дані розширюють та доповнюють уявлення про стан мукозального імунітету, факторів неспецифічної резистентності у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії; визначають особливості імунодіагностики у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії.

Доведено, що як при ХТ, так і після ТЕ статус локального імунітету знаходиться в стані гіпоергії, де найбільш значимо знижується гуморальна компонента захисту у вигляді достовірного зниження (в 1,5-2 рази, $p < 0,05$) рівня секреторного IgA в ротоглотковому секреті та противірусного чинника – α -інтерферону, порівняно з КГ.

Вперше доведено, що встановлені чинники прозапальної спрямованості, такі як IgG та інтерлейкін-1 β , при їх підвищеній концентрації (IgG в 3 рази, інтерлейкін-1 β більше 2,5 рази, $p < 0,05$) в РС - є маркерами ймовірного загострення запального процесу слизової оболонки глотки досліджуваних груп пацієнтів.

Показано, що антимікробний гуморальний системний імунітет за даними реакції нейтралізації стрептолізину-О є в стані високого рівня напруженості: у хворих на ХТ у 35%, а в пацієнтів після тонзилектомії у 90% обстежених.

В умовах експерименту *in vitro* в культурах клітин мигдаликів було встановлено, що як вакцина локальної - Респіброн, так і системної дії - ОМ-85 достовірно знижували продукцію прозапального цитокіну - IL-1 β , не впливали на продукцію IL-10 (протизапальний цитокін). По відношенню продукції цитокинів Th-1 лімфоцитами (IFN- γ) і Th-2 - (IL-4) показано різновекторні напрями дії - Респіброн достовірно підтримував продукцію IL-4, тоді як ОМ-85 - IFN- γ .

Встановлено, що прийом обох мукозальних вакцин, як у хворих на хронічний тонзиліт, так і пацієнтів після тонзилектомії в ранньому періоді достовірно знижував вміст прозапального цитокіну IL-1 β , не впливав на рівні IL-10 та секреторного IgA. ОМ-85 більш достовірно знижував кількість прозапальних клітин в РС як у хворих на ХТ, так і пацієнтів після ТЕ.

Виявлена вірогідність підвищення (більше 1,6 рази, $p < 0,05$) рівня загального IgE в крові хворих на ХТ під дією вакцини Респіброн. Під дією ОМ-85 – змін не спостерігалось. ОМ-85 більш ефективно впливав на рівень транзиторної флори в РС хворих на ХТ та пацієнтів після ТЕ, не змінюючи при цьому кількісного складу

резидентної флори ротоглотки, що може розглядатись як позитивний вплив на умовно-патогенну флору.

Отримано достовірні клінічні дані про те, що після прийому мукозальних вакцин в 3 рази ($p < 0,05$) зменшувались звернення хворих на ХТ з приводу загострень хронічного фарингіту, а пацієнтів після ТЕ - хронічного фарингіту та хронічного ларингіту (у 2-3 рази). Встановлено також зменшення (на 75%) кількості випадків гострих респіраторних захворювань верхніх дихальних шляхів, як в хворих на ХТ, так і пацієнтів після ТЕ.

Імунологічні дослідження проведені у віддаленому періоді (через 6 міс.) після прийому даних вакцин, показали достатньо стійкий позитивний результат за вмістом IgE та γ -інтерферону в крові та секреторного IgA в РС в пацієнтів обох груп. Підтверджені попередні дані про те, що підвищення у віддаленому періоді рівня прозапального цитокіну в РС може вказувати на ймовірність загострень запалення слизової оболонки глотки і потребує профілактичних та лікувальних заходів.

У дисертаційній роботі вирішене актуальне науково - практичне завдання сучасної оториноларингології – покращення клініко-імунологічного стану хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії шляхом обґрунтованого застосування мукозальних вакцин локальної та системної дії.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових робіт, з них 3 статті в іноземних виданнях та виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз, 2 статті у фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України та 10 тез у матеріалах науково - практичних конференцій. Отримано 1 патент України на корисну модель.

Публікації відповідають вимогам ДАК МОН України та повною мірою відображають матеріал дисертації.

Оформлення дисертації та її структура.

Дисертаційна робота викладена на 174 сторінках машинописного тексту і складається з титульного аркуша, анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділів, що відображають результати власних досліджень автора, обговорення результатів досліджень та їх аналіз, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, який містить 288 посилань, у тому числі 234 кирилицею та 54 – латиницею та додатків. Роботу ілюстровано 23 таблицями та 20 рисунками.

Вступ відповідає встановленим вимогам, включає актуальність теми, мету, задачі, об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну, практичну значимість отриманих результатів. Чітко вказано актуальність піднятої проблеми, що базується на численних літературних посиланнях.

Мета дослідження: Підвищити ефективність лікування і профілактики хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії шляхом застосування мукозальних вакцин загальної та місцевої дії.

В роботі чітко сформульовані 4 завдання дослідження, послідовне виконання яких дозволяє досягти поставленої мети.

Об'єкт дослідження : Хронічний тонзиліт.

Предмет дослідження : Клінічний стан пацієнтів, імунологічні дослідження біологічного матеріалу (РС та сироватки периферичної крові) та бактеріологічне дослідження РС у пацієнтів з різним станом структур лімфоглоткового кільця після застосування різних за способом введення мукозальних вакцин.

У 1 розділі «Огляд літератури», що складається з 3 підрозділів, автором висвітлені сучасні погляди на функцію мигдаликів лімфоглоткового кільця Пирогова–Вальдейера, описано клініко–імунологічний стан організму після тонзилектомії та роль мукозальних вакцин сучасного типу в зниженні рівня

інфекційно-запальних захворювань верхніх дихальних шляхів. Дані літератури викладені та проаналізовані з позицій завдань дослідження, сучасних підходів до діагностики, лікування та профілактики хронічних тонзилітів.

Зробивши аналіз літературних даних, автор робить висновок, що питання лікування та профілактики хронічного тонзиліту є актуальним зважаючи на те, що мигдалики ЛГК відіграють важливу роль у становленні та функціонуванні місцевого та системного гуморального імунітету та на постійне збільшення кількості імунокомпроментованих осіб, коли імунна відповідь на введення їм вакцин може бути ослабленою, тому відбувається постійний пошук ефективних методів терапії, щодо вирішення даних питань.

У 2 розділі «Матеріали та методи досліджень» автором дана загальна характеристика обстежених пацієнтів. Для вирішення поставлених завдань автором було проведено обстеження 150 осіб, віком від 18 до 40 років. Групам пацієнтів хворих на ХТ і після ТЕ, в якості терапії призначали мукозальні вакцини загальної та місцевої дії. Після кожного етапу збору матеріалу: до вакцинації, через 10 днів, через 6 місяців – в досліджуваних групах проводили клініко-інструментальні та лабораторні дослідження; імунологічні дослідження сироватки крові та ротоглоткового секрету; бактеріологічне дослідження ротоглоткового секрету; статистичні методи обробки отриманих результатів.

Автором обґрунтовано теоретичні засади, на яких було обрано кожний з клінічних та інструментальних методів дослідження.

Всі застосовані методи дослідження є інформативними для вирішення поставлених в роботі завдань та відповідають сучасним вимогам.

Кількість одиниць дослідження достатня для отримання коректних, статистично достовірних результатів.

У 3 розділі представлено результати аналізу скарг, клінічного огляду, лабораторних та імунологічних досліджень пацієнтів перед застосуванням

мукозальних вакцин. Було виявлено, що серед найбільш частих скарг обстежуваних пацієнтів, хворих на хронічний тонзиліт спостерігались: першіння та болі в горлі, та патологічний вміст в лакунах ПМ, неприємний запах з рота; підвищена втомлюваність; підвищення температури тіла до 37,1- 37,2 °С; збільшення регіонарних лімфовузлів. А в пацієнтів після ТЕ, по відношенню до КГ осіб, було достовірне зростання таких скарг, як першіння в горлі, а також підвищена втомлюваність і температури тіла до 37,1- 37,2°С. У загальному аналізі крові у хворих на ХТ та пацієнтів після ТЕ - в поодиноких випадках було виявлено показники, близькі до верхньої межі норми, або незначне підвищення деяких показників. Частота підвищення титрів АСЛ-О в сироватці крові пацієнтів хворих на ХТ становила 35%, після ТЕ - 90% та КГ - 10%. Таким чином, при визначенні титрів АСЛ-О в сироватці крові досліджуваних груп пацієнтів було визначено, що в пацієнтів після ТЕ кількість осіб, у яких було перевищення норми даного показника, була статистично достовірно вищою ($p < 0,01$) у порівнянні з КГ. Цей показник говорить про те, що антимікробний гуморальний системний імунітет за даними реакції нейтралізації стрептолізину-О є в стані високого рівня напруженості. Імунологічні дослідження показали зниження рівня рівня sIgA в РС у пацієнтів досліджуваних груп в порівнянні з контрольною групою, а визначення IgG в РС показало підвищений рівень лише у половини обстежених хворих на ХТ і пацієнтів після ТЕ. Отримані дані, щодо вмісту IL-1 в РС як у хворих на ХТ так і пацієнтів після ТЕ, які показують перевищення його порівняно з КГ, що свідчить про наявність запалення або «готовність» слизової до запалення. Визначення рівня клітинного складу РС в хворих на ХТ і в пацієнтів після ТЕ, до початку застосування мукозальних вакцин було встановлено, що середні значення відсотків епітеліоцитів, нейтрофільних гранулоцитів та лімфоцитів достовірно між собою не відрізнялись ($p > 0,05$).

У **4 розділі** показано вплив мукозальних вакцин місцевого та системного застосування на захисні фактори ротоглоткового секрету в умовах експерименту і клініки. В даному розділі встановлено, що прийом обох мукозальних вакцин

знижував вміст прозапального цитокіну IL-1 β , не діючи на вміст його антагоністу - IL-10, що є позитивним моментом. Визначення дії OM-85 в дослідженнях *in vitro* показало, що даний препарат був ефективнішим в плані впливу на регуляторні цитокіни: підвищував активність Th1-хелперів (γ -інтерферон) та знижував активність Th2-хелперів (інтерлейкін-4), а також більш достовірно знижував кількість прозапальних клітин в РС як у хворих на ХТ, так і пацієнтів після ТЕ. Мукозальні вакцини не впливали на вміст секреторного імуноглобуліну класу А в РС обох груп, однак при застосуванні Респіброну в крові хворих на ХТ підвищувався рівень загального IgE, що слід прийняти до уваги, якщо у пацієнтів є прояви алергії. При визначенні клітинного складу РС у пацієнтів досліджуваних груп до початку застосування мукозальних вакцин було встановлено, що середні значення відсотків епітеліоцитів, нейтрофільних гранулоцитів та лімфоцитів достовірно між собою не відрізнялись ($p > 0,05$). Подальші дослідження показали, що у хворих на ХТ та пацієнтів після ТЕ при застосуванні обох вакцин різниці між показниками до та після вакцинації не встановлено ($p > 0,05$). При визначенні біоценозу ВДШ було встановлено, що OM-85 ефективно впливав на зниження рівня транзиторної флори в РС хворих на ХТ та пацієнтів після ТЕ, не змінюючи при цьому кількісного складу резидентної флори ротоглотки, що може розглядатись як позитивний вплив на умовно-патогенну флору. В групах, що приймали Респіброн, тільки в пацієнтів після ТЕ зменшувався відсоток транзиторних мікроорганізмів.

У 5 розділі показана клініко-імунологічна оцінка ефективності застосування мукозальних вакцин в пацієнтів після тонзилектомії і хворих на хронічний тонзиліт. Отримані результати показали, що проведене лікування із застосуванням мукозальних вакцин в обох підгрупах групи хворих на ХТ давало позитивний ефект, що підтверджувалося зниженням у них середньої суми балів встановленої за клінічними показниками. Особливо помітним було зниження показників гіперемії дужок, кількості казеозно-гнійного детриту в лакунах піднебінних мигдаликів, температури тіла. У пацієнтів після ТЕ визначалось покращенням

самопочуття та зменшенням скарг пацієнтів, як таких до проведення мукозальної вакцинації. При об'єктивному огляді даної групи пацієнтів спостерігалось покращення стану структур ЛОР-органів, що характеризувалось достовірним зменшенням (в 2-3 рази, $p < 0,05$) ознак хронічного запалення, таких як застійна гіперемія слизової оболонки глотки та зменшення частоти звернень пацієнтів з хронічними фарингітами, зважаючи на свою поширеність в даній групі. Звертало на себе увагу значне зменшення кількості випадків гострих респіраторних захворювань ВДШ, оскільки їх кількість за рік спостережень після проведеної вакцинації бактеріальними антигенами статистично достовірно зменшилась ($p < 0,05$) в порівнянні з даними до вакцинації, як у хворих на ХТ, так і пацієнтів після ТЕ. Імунологічні обстеження проведені в хворих обох груп, у віддаленому періоді (через 6 міс.), після прийому обох мукозальних вакцин, показали достатньо стійкий позитивний результат за вмістом IgE, γ -інтерферону в крові та секреторного IgA в РС. Підвищення у віддаленому періоді рівня прозапального цитокіну в РС, а саме: у хворих на ХТ, мало місце достовірне ($p < 0,05$) підвищення IL-1 β після прийому Респіброну, тоді як в групі пацієнтів після ТЕ таке підвищення було при застосуванні обох вакцин. Це може вказувати на «готовність» слизової оболонки до загострень. Різноманітність дії мукозальних вакцин по відношенню до прозапального цитокіну в групах із різним станом мигдаликів (ХТ і ТЕ) дозволяє зробити припущення про можливість використання мукозальних вакцин системної та локальної дії у процесах лікування та імунопрофілактики.

У 6 розділі зроблено обговорення результатів дослідження та їх аналіз. Здійснена оцінка якості життя пацієнтів, як до так і після застосування мукозальних вакцин. Проаналізовано динаміку змін клінічного стану пацієнтів після застосування різних за складом та способом введення мукозальних вакцин. Отримані результати у групі хворих на ХТ, показали, що скарги пацієнтів достовірно зменшувались ($p < 0,05$) після застосування як ОМ-85, так і Респіброну. В пацієнтів після ТЕ, застосування обох мукозальних вакцин супроводжувалось

покращення стану структур ЛОР-органів і характеризувалось достовірним зменшенням ознак хронічного запалення (в 2-3 рази, $p < 0,05$). Крім того, звертало на себе увагу значне зменшення кількості випадків гострих респіраторних захворювань ВДШ, оскільки їх кількість за рік спостережень після проведеної вакцинації бактеріальними антигенами зменшилась на 75%. Імунологічні обстеження у хворих обох груп, проведені у віддаленому періоді (через 6 міс.) після прийому обох мукозальних вакцин, показали достатньо стійкій позитивний результат за вмістом IgE, γ -інтерферону в крові та секреторного IgA в ротоглотковому секреті. Підвищення у віддаленому періоді рівня прозапального цитокіну в РС, а саме: у хворих на ХТ мало місце достовірне ($p < 0,05$) підвищення IL-1 β після прийому мукозальної вакцини типу Респіброну, тоді як в групі пацієнтів після ТЕ таке підвищення було при застосуванні обох вакцин. Це може вказувати на «готовність» слизової оболонки до загострень і потребує профілактичних та лікувальних заходів.

Висновки дисертації логічно витікають з поставлених мети та завдань дослідження та відображають суть проведеної роботи.

Практичні рекомендації клінічно обґрунтовані, конкретні, лаконічні. Дані дисертаційного дослідження можуть бути використані в оториноларингологічних відділеннях для лікування та імунопрофілактики хворих на хронічний тонзиліт.

Роботу написано науковою мовою, викладені матеріали гарно сприймаються. Отримані результати обґрунтовані, виважені. Зміст автореферату у повній мірі відображає основні положення дисертації.

Дисертаційна робота відповідає встановленим вимогам, проте, є ряд зауважень, що не носять принципового характеру, та дискусійних питань до дисертанта.

Зауваження.

1. Період спостереження за пацієнтами з ХТ та ХТ з ТЕ у Вашому дослідженні складав 6 місяців, можливо доцільніше б було спостерігати за їх клініко-імунологічним станом не менше 1 року. Враховуючи, що імунологічні зміни відбуваються при цій патології повільно доцільно було б збільшити тривалість спостереження за результатами використання мукозальних вакцин.

2. В дослідженні автор проводить порівняння двох підгруп (пацієнти з ХТ та пацієнти з ХТ і ТЕ) можливо доцільніше порівнювати пацієнтів попередньо поділивши їх на підгрупи за тривалістю перебігу захворювання. Чи коректним на Вашу думку є порівняння пацієнтів, які мають хронічне захворювання і пацієнтів, які вже не мають відповідного органу.

В процесі аналізу роботи виникли також деякі питання на які хотілося б отримати відповіді:

- 1) Чи виключали Ви вірусну етіологію фарингітів у пацієнтів після ТЕ? Можливо варто було б у дослідженні застосовувати методи визначення збудників не тільки бактеріальної природи?
- 2) Чим пояснити, що у пацієнтів хворих на ХТ в 35 % був підвищений рівень АСЛ-О, та у 90% пацієнтів після ТЕ, про що вам цей показник говорить?
- 3) Визначення яких імуноглобулінів у роботі свідчили про наявність запалення або «готовність» слизової оболонки до загострення запального процесу?
- 4) Які показники були найбільш інформативними для встановлення локального імунологічного статусу в пацієнтів всіх досліджуваних груп?
- 5) Чи ви плануєте продовжувати удосконалювати методики і підходи до застосування мукозальних вакцин в своїй практиці?

- 6) Як Ви вважаєте, чи можливо застосування описаних у роботі препаратів для імунотерапії на початкових етапах лікування хворих на ХТ? Чи можливо що цей крок дозволить уникати декомпенсації ХТ і тонзилектомії в подальшому?
- 7) В роботі анонсований такий метод дослідження як бактеріологічний, тому хотілося б уточнити, який же збудник частіше був представлений в результатах даного дослідження?

Відповідність дисертації вимогам, які пред'являються до наукового ступеня кандидата медичних наук.

В цілому, дисертація Тинітовської О.І. за обсягом та глибиною проведених досліджень відповідає вимогам, які пред'являються до дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.

Висновок

Дисертаційна робота Тинітовської О.І. на тему: «Клініко-імунологічне дослідження ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії», подана до офіційного захисту у спеціалізовану вчену раду Д 26.611.01 при ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України» за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія містить теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання щодо підвищення якості діагностики та оцінки ефективності консервативного лікування хворих з хронічним тонзилітом та після тонзилектомії на основі проведених клініко-імунологічних досліджень.

Дисертація є закінченою, самостійно виконаною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю, науковою новизною одержаних результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань» ДАК Міністерства освіти і науки України

щодо кандидатських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567, а її автору Тинітовській Оксані Іванівні може бути присуджено ступінь кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія.

Офіційний опонент

Доктор медичних наук, професор
завідувач кафедри оториноларингології
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця

Ю.В. Деева