

ВІДЗИВ

офіційного опонента, завідувача кафедри оториноларингології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України, доктора медичних наук, професора Кіщука Василя Васильовича на дисертаційну роботу Тинітовської Оксани Іванівни на тему: «Клініко-імунологічне дослідження ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії» представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.19 – оториноларингологія.

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

Хронічний тонзиліт (ХТ) займає одне з перших місць в структурі загальної захворюваності ЛОР органів. Важливим є питання імунології хронічного тонзиліту і пов'язана з цим виникнення багатьох органо - системних захворювань

Піднебінні мигдалики відіграють важливу роль у забезпеченні місцевого та системного імунітету організму, тому питання вибору лікувальної тактики та профілактика пацієнтів з захворюваннями мигдаликів, слизової оболонки глотки залишається актуальною.

У зв'язку з цим, є важливим визначення ефективності застосування мукозальних вакцин. Дана методика базується на здатності мікроорганізмів проникати через слизові оболонки та вступати у взаємодію з захисними системами пацієнта.

Одним із ефективних напрямків запобігання (профілактики) і лікування цієї патології є імунопрофілактика у вигляді вакцинації бактеріальними антигенами.

Ефективність вакцинації пацієнтів напряму пов'язана зі станом реактивності організму. Кожна вакцина має свою імуномодельюючу активність і може викликати як активацію, так і супресію окремих ланок імунної системи. Ефективність мукозальних вакцин також залежить від складу та від способу введення.

Тому дисертаційна робота Тинітовської О. І., яка присвячена вивченню стану лімфоглоткового кільця до та після мукозальної імунізації у хворих на ХТ та пацієнтів після ТЕ - є актуальною для практичної охорони здоров'я.

НАУКОВА НОВИЗНА ОСНОВНИХ ПОЛОЖЕНЬ І ВИСНОВКІВ, СФОРМУЛЬОВАНИХ У ДИСЕРТАЦІЇ

Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, в рамках науково-дослідної роботи відділу запальних захворювань ЛОР-органів і лабораторії патофізіології та імунології ДУ «Інституту отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»: «Клініко-імунологічне дослідження стану противірусних чинників локального та системного імунітету в умовах норми, інфекційно-запальних захворюваннях верхніх дихальних шляхів, при різних станах структур лімфаденоїдного глоткового кільця та застосуванні нових імунокоректорів». Реєстраційний номер 0117U000124. Дисертант є виконавцем фрагменту дослідження.

Робота базується на достатньому клінічному матеріалі, даних лабораторних та інструментальних досліджень, статистичному аналізі.

Дисертантом обстежено 150 осіб, віком від 18 до 40 років, було сформовано три групи пацієнтів:

Перша група - пацієнти хворі на хронічний тонзиліт (ХТ). Дана група складала 62 пацієнти. В свою чергу вона поділялась на дві підгрупи : до 1-ої увійшов 31 пацієнт, які приймали мукозальну вакцину – Респіброн, до 2-ї увійшов 31 пацієнт, вони приймали –ОМ-85 (Бронхо-Ваксом).

Другу групу склали пацієнти, яким була проведена тонзилектомія (ТЕ), термін після ТЕ складав до 2 років. До неї увійшло 58 пацієнтів. Дана група також поділялась на дві підгрупи : 1-ша підгрупа складала 29 пацієнтів, які приймали – Респіброн, до 2-ї також увійшло 29 пацієнтів, які приймали - ОМ-85.

Третя – контрольна група (КГ), практично здорові особи, без патології верхніх дихальних шляхів та системної органної патології. Дана група складала - 30 пацієнтів.

Робота виконана на високому науково-методичному рівні, побудована методично вірно. Методики дослідження адекватні та сучасні для вирішення поставлених задач. Аналіз результатів виконано із застосуванням статистичних методів, що забезпечує їх достовірність і обґрунтованість. Отриманні результати логічно взаємо пов'язуються, узгоджуються між собою. Головні наукові положення дисертації, висновки і практичні рекомендації логічно формулюються з матеріалів роботи, базуються на фактичних даних, об'єктивно обґрунтовані. Являються підсумком проведених досліджень та містять нові важливі наукові та практичні узагальнення. Висновки і практичні рекомендації аргументовані і відповідають меті і задачам дослідження.

ДОСТОВІРНІСТЬ І НОВИЗНА ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Наукові положення дисертації чітко сформульовані та підтвержені отриманими результатами. Обґрунтованість результатів, коректність та їх достовірність базується на достатній кількості одиниць дослідження. Отримані в роботі дані розширюють та доповнюють уявлення про стан мукозального імунітету, факторів неспецифічної резистентності у хворих на хронічний тонзиліт та після тонзилектомії, визначають особливості імунодіагностики.

Доведено, що як при ХТ, так і після ТЕ статус локального імунітету знаходиться в стані гіпоергії, де найбільш значимо знижуються гуморальні фактори 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 дії - 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 цитокінів 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, 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. Розроблено діагностичний лікувальний алгоритм попередження загострення запалення слизової оболонки глотки при хронічному тонзиліті та після тонзилектомії.

ПОВНОТА ВИКЛАДЕННЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ

За темою дисертації опубліковано загалом 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 повністю відображають всі основні положення дисертаційної роботи.

ОФОРМЛЕННЯ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ЇЇ СТРУКТУРА

Дисертаційна робота викладена на 174 сторінках машинописного тексту і складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 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, 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 визначено актуальність піднятої проблеми, що базується на численних літературних посиланнях.

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

Чітко сформульовані 4 задачі дослідження, послідовне виконання яких дозволяє досягнути поставленої цілі.

Об'єктом дослідження був: хронічний тонзиліт.

Предмет дослідження: зміни клінічного стану, імунологічні дослідження біологічного матеріалу (ротоглоткового секрету та сироватки периферичної крові) та бактеріологічне дослідження ротоглоткового секрету, в пацієнтів з різним станом структур лімфоглоткового кільця після застосування мукозальних вакцин.

Розділ I. Огляд літератури. Автором наведені відомості стосовно проблеми хронічного тонзиліту. Літературні дані викладені та проаналізовані з позицій завдань дослідження, сучасних підходів до діагностики та лікування.

Базуючись на літературних даних, автор довів доцільність подальшого вивчення питань підвищення ефективності лікування і профілактики хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії шляхом застосування мукозальних вакцин загальної та місцевої дії.

Розділ II. Матеріали і методи дослідження.

Автором детально описані методики обстеження хворих та методи статистичної обробки отриманих результатів. Повно та змістовно обґрунтовані

теоретичні засади, на яких було обрано кожний із клініко-інструментальних, лабораторних, імунологічних, бактеріологічних та статистичних досліджень.

Автор, використовуючи сучасні методи дослідження, намагався розширити та доповнити уявлення про стан мукозального імунітету у хворих на хронічний тонзиліт та у пацієнтів після тонзилектомії, визначити особливості імунодіагностики.

Розділ III. Присвячений вивченню особливостей клінічного та локального імунологічного стану у хворих на хронічний тонзиліт і пацієнтів після тонзилектомії. Автором проаналізовані найбільш часті скарги: це підвищення втомлюваності, підвищення t^0 тіла до $37,1 - 37,2^{\circ}\text{C}$, патологічний вміст в лакунах мигдаликів, збільшення регіонарних лімфо вузлів. У пацієнтів після тонзилектомії почастишали скарги на першіння в горлі. Збільшилась кількість звернень пацієнтів з фарингітами, риносинуситами. Після проведення досліджень визначили відхилення в ряді показників: клінічних, лабораторних, імунологічних, які свідчать про порушення механізмів як локального, так і системного імунологічного захисту у хворих на ХТ і пацієнтів після тонзилектомії. Це зумовлює необхідність пошуку нових комбінації імунозамінюючої терапії.

Розділ IV. Висвітлює вплив мукозальних вакцин місцевого та системного застосування на захисні фактори ротоглоткового секрету в умовах експерименту і клініки. В даному розділі проведено експериментальні та клініколабораторні (клінічні, імунологічні та мікробіологічні) дослідження.

Широке розповсюдження мукозальної вакцинації виявило неоднозначний їх вплив на показники вродженого та набутого імунітету.

Проведені дослідження показали, що після прийому обох мукозальних вакцин знижувався вміст прозапального цитокіну $\text{IL-1}\beta$, не діючи на вміст його антагоністу – IL-10 , що є позитивним моментом.

Мукозальні вакцини не впливали на вміст секреторного імуноглобуліну класу А в ротоглотковому секреті обох груп. При визначенні біоценозу ВДШ встановлено, що ОМ-85 активно 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 умовнопатогенну флору. Респіброн у пацієнтів після ТЕ зменшував відсоток транзиторних мікроорганізмів

Розділ У. Автор проводить клініко-імунологічну оцінку ефективності застосування мукозальних вакцин у пацієнтів після тонзилектомії і хворих на хронічний тонзиліт. Висвітлюється клінічний стан пацієнтів. Отримані результати до та після проведення мукозальної вакцинації у групі хворих на ХТ, показали, що скарги на : першіння і біль в горлі; патологічний вміст в лакунах ПМ; підвищена втома та відчуття слабкості тіла, після застосування як ОМ-85, так і Респіброну. Також, було достовірне зменшення ознак хронічного запалення ротоглотки ($p < 0,05$): застійної гіперемії та валикоподібного потовщення країв піднебінних дужок, патологічного вмісту в лакунах ПМ, застійної гіперемії СО глотки; і зменшення регіонарних лімфовузлів ($p < 0,01$), порівняно з даними в групі до вакцинації.

В пацієнтів після ТЕ, застосування обох мукозальних вакцин супроводжувалось покращенням стану структур ЛОР-органів і характеризувалось достовірним зменшенням ознак хронічного запалення (в 2-3 рази, $p < 0,05$): застійної гіперемії слизової оболонки глотки та частоти звернень пацієнтів з фарингітами. Також, після прийому Респіброну за рік спостережень, лише в 3,4% хворих на ХТ був риносинусит, а в пацієнтів після ТЕ – в 6,8%.

Після застосування ОМ-85, в хворих на ХТ був риносинусит у 3,4%. Крім того, звертало на себе увагу значне зменшення кількості випадків гострих респіраторних захворювань верхніх дихальних шляхів, оскільки їх кількість за рік спостережень після проведеної вакцинації бактеріальними антигенами зменшилась на 75%. Хворі на ХТ і пацієнти після ТЕ, які застосовували обидві

вакцини, відзначали зменшення в 2-3 рази ($p < 0,05$) кількості випадків ГРЗ протягом року спостережень, та тривалості перебігу самого захворювання з 10-12 днів, до 4-5 днів при ХТ та 4-6 днів після ТЕ.

Проведене лікування із застосуванням мукозальних вакцин в обох підгрупах хворих на ХТ мало позитивний ефект, що потверджувалося 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, кількості загострень і температури тіла.

У пацієнтів після ТЕ відзначалось покращення самопочуття та зменшення скарг пацієнтів після проведення мукозальної вакцинації. Достовірно зменшилися ознаки хронічного запалення: застійна гіперемія слизової оболонки глотки, зменшення кількості випадків гострих респіраторних захворювань ВДШ.

Різною направленістю дії мукозальних вакцин по відношенню до прозапального цитокіну в групах з різним станом мигдаликів (ХТ і ТЕ) дозволяє припустити можливість використання мукозальних вакцин системної і локальної дії у процесах лікування та імунопрофілактики.

Розділ VI. Обговорення результатів досліджень та їх аналіз.

Питання хронічного тонзиліту, незважаючи на численні дослідження вчених, викликає чимало дискусій. ХТ – захворювання, яке займає одне з перших місць в структурі загальної захворюваності ЛОР-органів. Піднебінні мигдалики відіграють важливу роль у забезпеченні місцевого та системного імунітету організму. Вибір лікувальної тактики і профілактики у пацієнтів є актуальним питанням, особливо імунопрофілактики у вигляді вакцинації бактеріальними антигенами. У зв'язку з цим, важливим є визначення ролі мукозальних вакцин. Не зважаючи на спірні питання щодо діагнозу хронічний тонзиліт – проблема імунного локального захисту ротоглотки залишається актуальною, особливо

після тонзилектомії. Мукозальні вакцини є більш профілактичним засобом, що запобігає розвитку інфекцій – запальних процесів у верхніх дихальних шляхах.

Хворі на ХТ і пацієнти після ТЕ, які застосовували обидві вакцини, відзначали зменшення в 2-3 рази ($p < 0,05$) кількості випадків ГРЗ протягом року спостережень, та тривалості перебігу самого захворювання з 10-12 днів, до 4-5 днів при ХТ та 4-6 днів після ТЕ.

При дослідженні локального імунологічного статусу в ротоглотковому секреті пацієнтів всіх досліджуваних груп було визначено концентрацію секреторної та мономерної форм IgA, IgG, вмісту прозапального цитокіну-інтерлейкіну- 1β та противірусного чинника –інтерферону- α .

Визначення рівня sIgA показало зниження вмісту даного імуноглобуліну в РС у пацієнтів досліджуваних груп в порівнянні з контролем. Концентрація прозапального цитокіну – IL- 1β була підвищена у хворих на ХТ (55%) та у пацієнтів після ТЕ (60%) у порівнянні з КГ, що свідчить про наявність запалення або «готовність» слизової до запалення .

В ході клініко-імунологічних досліджень було встановлено, що прийом обох мукозальних вакцин, як у хворих на ХТ, так і пацієнтів після ТЕ, знижував вміст прозапального цитокіну IL- 1β , не діючи на вміст його антагоністу IL-10, що є позитивним моментом.

Імунологічні обстеження у хворих обох груп, проведені 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 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- 1β 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 цілей і задач дослідження, розкривають суть проведеної роботи – покращення клініко-імунологічного стану хворого на хронічний тонзиліт та пацієнтів після проведеної тонзилектомії шляхом обґрунтованого застосування мукозальних вакцин локальної та системної дії.

Практичні рекомендації обґрунтовані, клінічно і лабораторно підтвержені. Дані дисертаційного дослідження можуть бути використанні при лікуванні хронічного тонзиліту, фарингіту із застосуванням мукозальних вакцин.

Робота написана грамотно, науковою мовою. Викладені методики сприймаються легко. Зміст автореферату в повній мірі розкриває основні положення дисертації.

Дисертація відповідає встановленим вимогам, але є ряд зауважень і запитань:

1. В дисертації зустрічаються граматичні та стилістичні помилки (ст. 51,61,79,113).
2. Деякі таблиці перезавантаженні інформацією і важко сприймаються.
3. По тексту дисертації зустрічаються повтори інформації.

Запитання

1. Якими були критерії включення пацієнтів до досліджуваних груп?
2. Чи були критерії виключення?
3. Чим відрізняються мукозальні вакцини Респіброн і ОМ-85? Схема застосування та дозування?
4. Чи були у Вашій практиці алергічні реакції при застосуванні мукозальних вакцин?

Вище згадані зауваження не носять принципового характеру, не зменшують значення проведеної наукової роботи, а запитання носять дискусійний характер.

ВИСНОВОК ЩОДО ВІДПОВІДНОСТІ ДИСЕРТАЦІЇ ВСТАНОВЛЕНИМ ВИМОГАМ:

Дисертаційна робота Тинітовської Оксани Іванівни на тему: «Клініко-імунологічне дослідження ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії» подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є закінченою науковою роботою, яка містить нове вирішення актуальної задачі в оториноларингології - підвищення ефективності мукозальної імунізації у хворих на хронічний тонзиліт та пацієнтів після тонзилектомії. Актуальність теми роботи, високий методичний рівень досліджень, наукова новизна отриманих результатів, їх практична цінність дозволяють вважати, що дисертація Тинітовської Оксани Іванівни повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013р №567, а здобувач заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.19 оториноларингологія.

Завідувач кафедри оториноларингології

Вінницького національного медичного

університету імені М.І. Пирогова МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

Заслужений лікар України

В. В. Кіщук