

ОТЗЫВ

официального оппонента Летяевой Ольги Ивановна, доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры дерматовенерологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Ковалыка Владимира Павловича «Этиопатогенетическое и клиническое значение вирусов герпеса и папилломы человека в развитии у мужчин урогенитальных инфекций и бесплодия. Принципы лечения», представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.23. Дерматовенерология

Актуальность темы диссертационного исследования

Проблема диагностики и терапии урогенитальных инфекций является актуальной медицинской проблемой ввиду их широкой распространенности. Так, отчеты Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют о 374 млн. новых случаев в год только лишь четырех излечимых инфекций, передаваемых половым путем (хламидийная, гонококковая, трихомонадная инфекции и сифилис), что составляет более 1 млн. случаев в день. Урогенитальные инфекции ухудшают сексуальное и репродуктивное здоровье, являются причиной стигматизации, снижают качество жизни и повышают вероятность инфицирования ВИЧ. Особое значение имеют инфекции, вызванные вирусами герпеса и вирусами папилломы человека, персистирующие в организме человека практически постоянно. При этом, если генитальный герпес и аногенитальные бородавки достаточно хорошо изучены, то роль ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР в развитии воспалительных заболеваний урогенитальной сферы до конца не установлена.

Актуальность герпесвирусных инфекций обусловлена их иммуносупрессорным воздействием на организм, при котором страдают все звенья иммунитета. В свою очередь папилломавирусы участвуют в

онкогенной трансформации эпителия с исходом в широкий спектр раковых заболеваний слизистых оболочек. В связи с этим, наибольшее внимание исследователей приковано к группе вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска.

С другой стороны, инфекции добавочных половых желез являются общепризнанными факторами бесплодия, распространенность которого в Российской Федерации составляет по некоторым оценкам составляет до 20% семейных пар. Бесплодие входит в перечень социально значимых заболеваний. При этом, роль мужского фактора составляет 20-30%, а еще в 20-30% случаев наблюдают сочетание мужского и женского факторов. Таким образом, на долю мужского бесплодия в среднем приходится около 50% случаев. Влияние вирусов герпеса 1 и 2 типа на фертильность у мужчин хорошо изучена еще с 2000х годов, в то же время исследований роли вирусов герпеса IV-VI типов единицы.

Хроническая тазовая боль - распространенное заболевание у мужчин, в развитии которого значительная роль принадлежит патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. Тем не менее подавляющее большинство случаев абактериального хронического простатита не имеет установленного инфекционного бактериального агента при наличии объективных признаков воспаления, что заставляет исследователей обратить внимание на вирусные инфекции.

Все вышеизложенное подтверждает, что исследование Ковалька Владимира Павловича, посвящённое научному пониманию роли герпесвирусов и вирусов папилломы человека при урогенитальной патологии и бесплодии у мужчин является актуальным и имеет большое научное и практическое значение.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Достоверность сформулированных в диссертации результатов работы, выводов и рекомендаций обоснована теоретическими решениями и современными экспериментальными данными, которые не противоречат известным положениям науки и получены в результате обследования и лечения достаточно большого количества участников исследования; базируется на адекватных взаимодополняемых клинико-лабораторных и статистических методах исследования, обоснованных выводах, согласуется с трудами известных отечественных и зарубежных учёных.

Научной новизной диссертационной работы являются изученные автором данные об ассоциации герпесвирусов и папилломавирусов с хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли, идиопатическим бесплодием. Автором получены новые данные о влиянии вирусных агентов на концентрацию и подвижность сперматозоидов, важнейшими параметрами фертильности эякулята. Для объективизации влияния изучаемых вирусов использовано измерение их концентрации не в объеме эякулята, а на 100.000 сперматозоидов, что позволило сравнивать образцы с разной концентрацией половых клеток. Выводы подкреплены экспериментальным исследованием по инфицированию эякулята цитомегаловирусом, в котором вирусные белки были обнаружены в различных структурах сперматозоидов. Это первое исследование по инфицированию эякулята *in vitro*. Впервые дано описание клинических особенностей синдрома хронической тазовой боли, ассоциированного с герпесвирусами и папилломавирусами, при которых соискатель обнаружил достоверную ассоциацию заболевания с депрессивными и тревожными расстройствами, анамнезом инфекций, передаваемых половым путем и повторных курсах лечения хронического простатита.

Наиболее новаторской является часть исследования, в которой автор изучает терапевтический подход к лечению вирус-ассоциированных случаев хронического простатита/синдрома хронической тазовой боли и бесплодия.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения и выводы диссертации базируются на фундаментальных подходах к научному исследованию, представленных в классических и современных работах российских и зарубежных ученых. Работа Ковалька В.П. выполнена на высоком научно-методологическом уровне, а научные положения работы, выводы и практические рекомендации обоснованы и подтверждаются достаточным количеством наблюдений. На первом этапе было привлечено репрезентативное число участников исследования – 489 человек. Для объективизации влияния вирусных агентов лабораторные исследования проводились в профильном учреждении – НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского с использованием конфокальной микроскопии, оптики Номарского, количественных молекулярно-генетических исследований. Степень тяжести симптомов пациентов представляли с помощью шкалы оценки симптомов хронического простатита как до- так и после лечения. Достоверность выводов об ассоциации герпесвирусов и папилломавирусов с урогенитальными воспалительными заболеваниями подтверждается статистическим анализом с оценкой вероятности ошибки не более 5%. Поэтому выводы Ковалька В.П. о роли исследуемых вирусных агентов при тазовом болевом синдроме и в снижении фертильности являются убедительными. На втором этапе исследовали 287 мужчин с хроническим простатитом и бесплодием. Эффективность комбинированного метода лечения с помощью ациклического нуклеозида валацикловира и препарата интерферона $\alpha 2\beta$ автор изучал в сравнении с эффективностью стандартного лечения антибактериальным препаратом, селективным $\alpha 1$ -адреноблокатором и нестероидным противовоспалительным средством. Статистической обработке подверглись все результаты исследования. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка (при числе

исследуемых менее 50) или критерий Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента. Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна-Уитни. Статистическая значимость различий количественных показателей, имеющих нормальное распределение, между группами оценивалась при помощи однофакторного дисперсионного анализа путем расчета критерия F Фишера. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. Таким образом, автором использованы современные методы статистического анализа исследуемых переменных и полученных данных.

Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в работе, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно отражены в таблицах, графиках и рисунках. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из полученных результатов.

Ценность для науки и практики результатов работы

В результате проведенного исследования установлены потенциальные вирусные факторы, ассоциированные с такими социально-значимыми заболеваниями как инфекции добавочных половых желез и мужское бесплодие. Показана роль герпесвирусов и папилломавирусов, обнаруживаемых в урогенитальных пробах (уретра, секрет предстательной железы, эякулят) в течении синдрома хронической тазовой боли. Наглядно продемонстрировано влияние цитомегаловируса, вируса Эпштейна-Барр и вируса герпеса 6 типа на снижение концентрации и подвижности сперматозоидов.

Результаты работы расширяют спектр исследования при изучаемых заболеваниях, не ограничиваясь лишь бактериологическим исследованием и проведением полимеразной цепной реакции на стандартные инфекции, передаваемые половым путем.

Предложенные схемы лечения валацикловиром и интерфероном $\alpha 2\beta$ оказались эффективными и могут быть использованы в лечении урогенитальных инфекций, ассоциированных с герпесвирусами.

Выводы исследования использованы при написании Клинических рекомендаций «Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция» и «Аногенитальные (венерические) бородавки» (утвержденные МЗ РФ в 2020-21 гг).

Структура и содержание работы

Диссертация Ковалька Владимира Павловича представлена на 247 страницах компьютерного текста и оформлена согласно существующим требованиям, содержит 39 таблиц, 18 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, содержащего 417 источников, из них отечественных – 72 и зарубежных – 345, а также четырех приложений.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы диссертационного исследования, чётко сформулированы цели и задачи, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, определены положения, выносимые на защиту.

Первая глава охватывает обширный обзор научной литературы, посвящённый тематике урогенитальных инфекций и бесплодия с раскрытием современных исследований в этой области, их результатах и перспективных направлениях дальнейшего поиска. Особое внимание автор уделил теме

передачи половым путем различных типов герпесвирусов, их распространенность в зависимости от сексуального поведения. Анализ данной главы позволяет отметить, что автор хорошо ориентируется в изучаемой проблеме и знает научные труды отечественных и зарубежных учёных, посвящённых теме диссертационной работы.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследований. В ней дана характеристика группам исследования и подходам к их изучению. Автором обоснована необходимость количественного исследования вирусных агентов и сопоставления результатов с параметрами качества спермы. Проведение экспериментального исследования обосновано существующими представлениями о том, что инфицирование сперматозоидов происходит в яичке на этапе их созревания. Подробно описаны этапы клинико-лабораторного и инструментального обследования пациентов с симптомами урогенитальных инфекций. Соискатель учел возможность коинфекции традиционными инфекциями, передаваемыми половым путем и равномерно распределил участников в изучаемых группах. Тщательно продуманы статистические методы, подтверждающие достоверность выводов. Представлены схемы лечения, две из которых направлены на достижение противовирусного эффекта и одна – стандартное лечение синдрома хронической тазовой боли. Критерии включения и исключения также способствуют объективизации выводов.

Третья глава посвящена изучению роли герпесвирусов и папилломавирусов при хроническом простатита/синдроме хронической тазовой боли и при мужском бесплодии. Одна из изучаемых группы включала пациентов с инфертильностью на фоне инфекций добавочных половых желез. Показано, что в контрольной группе здоровых фертильных мужчин вирусы герпеса и папилломавирусы не обнаруживаются. Проведен анализ одновременного инфицирования различными типами вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска и их вклад в развитие инфекций добавочных половых желез и бесплодия. Автор оценил качественные и

количественные показатели инфицирования герпесвирусов и папилломавирусов в снижение показателей качества спермы. Показано, что самая высокая концентрация герпесвирусов оказалась в группе мужчин с идиопатическим бесплодием. В то же время, обнаружение вирусов папилломы человека в эякуляте в высокой концентрации, превышающей порог клинической значимости было достоверно ассоциировано с воспалительными урогенитальными заболеваниями. Показано, что герпесвирусы в эякуляте локализованы преимущественно в клеточной фракции, то есть находятся в тесном контакте с половыми клетками, ухудшая их функцию.

Экспериментальное исследование наглядно продемонстрировало, что возможно *in vitro* инфицирование зрелых сперматозоидов.

В четвёртой главе дана клиническая оценка хроническому простатиту/синдрому хронической тазовой боли, ассоциированному с герпес- и папилломавирусами. Достоверно чаще у таких пациентов наблюдали умеренно выраженные психосоциальные расстройства в виде депрессии (70,9%) и тревоги (28,1%). Также получено статистическое подтверждение, что данные пациенты в анамнезе чаще имели указания на инфекции, передаваемые половым путем, проявляющиеся в виде уретрита, а также большее число курсов лечения хронического простатита.

Автором показано, что ближайшие результаты эффективности проводимой терапии группах лечения валацикловиром и интерфероном $\alpha 2\beta$ не уступали таковым в группе сравнения. Более того, еще через 3 месяца наблюдали достоверно более лучшие результаты в группах противовирусного лечения.

Оценен вирусологический эффект терапии в виде снижения титра или элиминации вирусов герпеса из урогенитальных проб пациентов, что сопровождалось снижением баллов по шкале оценки симптомов хронического простатита.

Соискатель оценил репродуктивный эффект пациентов, который оказался выше в группах противовирусного лечения. При электронно-

микроскопическом исследовании было показано, что частота внутригаметного инфицирования сократилась более чем в 2 раза.

В пятой главе диссертации обсуждены полученные результаты. Данные, полученные соискателем были сопоставлены с другими схожими работами. Даны возможные объяснения полученных различий. Выстроена гипотетическая модель влияния герпес- и папилломавирусной инфекции на этапное развитие урогенитальных воспалительных заболеваний, при определенных условиях, осложняющихся бесплодием. Намечены будущие исследования, развивающие тему вирусных урогенитальных инфекций.

В заключении автор резюмирует проведенные исследования, указывая на их важное медико-социальное значение.

Семь выводов сформулированы на основе полученных результатов, что полностью соответствуют задачам исследования.

В диссертационной работе приведены практические рекомендации по совершенствованию диагностики и лечения хронического простатита/синдрома хронической тазовой боли и мужского бесплодия.

Основные положения, выводы и рекомендации по использованию результатов проведенного исследования научно обоснованы, достоверны и обеспечены достаточным количеством данных.

Содержание диссертационной работы Ковалыка Владимира Павловича полностью соответствует заявленной специальности 3.1.23. Дерматовенерология.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертационного исследования в научной печати

По теме диссертации опубликовано 29 научных работ, в том числе 7 в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах цитирования (Web of Science, Scopus, PubMed); 7 – в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России с импакт-фактором не ниже

0,1; 5 - в журналах, рекомендуемых ВАК/РУДН; 2 монографии; 1 справочник; 2 клинические рекомендации; 5 публикаций в сборниках материалов конференций.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание и оформление автореферата Ковалька Владимира Павловича «Этиопатогенетическое и клиническое значение вирусов герпеса и папилломы человека в развитии у мужчин урогенитальных инфекций и бесплодия. Принципы лечения» полностью соответствует диссертации, достаточно полно отражает её разделы и положения и резюмирует полученные результаты.

Замечания по диссертационной работе

На наш взгляд для контроля эффективности проводимой терапии следовало проводить мониторинг содержания лейкоцитов в секрете предстательной железы, что помогло бы объективизировать регресс воспалительного процесса в железе. Тем не менее, автор работы применил достаточно клинических и лабораторных показателей, позволивших показать эффективность терапии, что также является научным решением проблемы мониторинга.

При ознакомлении с работой возникли следующие вопросы:

1. Известно, что разные генотипы ВПЧ имеют разный патогенный потенциал. Проводили ли генотипирование ВПЧ и определяли ли вирусную нагрузку для каждого типа?
2. Многие авторы указывают на значимость бактериально-вирусных ассоциаций в развитии воспалительных заболеваний урогенитального тракта.

Оценивалось ли состояние микробиоценоза урогенитального тракта на предмет выявления условно-патогенной микрофлоры?

3. Скажите пожалуйста, почему в качестве противовирусной терапии был выбран именно валацикловир?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют научной и практической ценности работы.

Заключение по работе

Диссертационное исследование Ковалыка Владимира Павловича «Этиопатогенетическое и клиническое значение вирусов герпеса и папилломы человека в развитии у мужчин урогенитальных инфекций и бесплодия. Принципы лечения» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой решена актуальная проблема оценки этиопатогенетического и клинического значения герпесвирусов человека IV–VI типов и вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска в развитии урогенитальных заболеваний и бесплодия у мужчин и разработаны принципы лечения ХП/СХТБ и инфекций добавочных половых желез, ассоциированных с этими вирусами. По своей актуальности, научной новизне, практической значимости и уровню проведенных исследований диссертационная работа в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора медицинских наук, согласно п.2.1 раздела II «Положения о присуждении учёных степеней в федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Учёным советом РУДН, протокол №12 от 23.09.2019 г., а её автор – Ковалык Владимир Павлович – заслуживает присуждения

