

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Мелехиной Елены Валериевны

на диссертационную работу Тянь Натальи Сергеевны
на тему: «Клинико-лабораторная характеристика заболеваний,
ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей»,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни

Актуальность темы диссертационного исследования

Высокий уровень инфицированности бетагерпесвирусами человека 6А/В (ВГЧ-6А/В) и способность вызывать разнообразные нозологические формы делает вирусы объектом активного научного изучения в различных странах мира. Среди детей раннего возраста ВГЧ-6А/В является самой частой активной герпесвирусной инфекцией и регистрируется в 76% случаев. Способность ВГЧ-6А/В пожизненно персистировать в организме человека, влиять на иммунную систему, запускать воспалительные процессы отражают значимость изучения вируса для понимания механизмов формирования адекватного иммунного ответа. Латенция в мононуклеарных клетках периферической крови, слюнных железах позволяет пожизненно циркулировать в организме хозяина с возможностью реактивации.

Уникальная способность ВГЧ-6А/В интегрироваться в субтеломеры хромосом человека с формированием хромосомно-интегрированной формы описана у 0,5–2% населения земного шара. Обнаружение вируса в таких случаях не требует лечения, только наблюдения для оценки отсроченных последствий. Однако, к сожалению, в большинстве случаев хиВГЧ-6А/В диагностируется у детей при отсутствии эффекта длительно применяемой противовирусной терапии. Несмотря на то, что для диагностики хиВГЧ-6А/В статуса общепринято исследование волосяных фолликулов и ногтевых пластин для выделения ДНК ВГЧ-6А/В остается много нерешенных вопросов о роли хиВГЧ-6А/В в формировании соматической патологии и механизмах формирования хиВГЧ-6А/В статуса. Исследование хиВГЧ-6А/В статуса с применением полногеномного секвенирования для установления механизмов

передачи хиВГЧ-6А/В статуса является малоизученным и перспективным методом в данном направлении.

Диагностика активных форм инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В, не теряет своей актуальности у пациентов с инфекционными и соматическими заболеваниями. Очевидна необходимость комплексного подхода к диагностике с применением прямых и непрямых методов. С другой стороны, отсутствие повсеместной доступности определения ДНК вирусов количественным методом поднимает вопрос разработки подходов к диагностике с использованием качественного определения ДНК вируса и определения показаний к проведению противовирусной терапии.

Ранее изучение ВГЧ-6А/В проводилось без разделения на виды. Внедрение тест-систем для дифференциации ВГЧ-6А/В («Интифика HHV6A / HHV6B» производства ООО «Алкор Био», Россия) позволяет оценивать клиничко-лабораторные аспекты заболеваний, вызванных ВГЧ-6А и ВГЧ-6В, в отдельности для улучшения понимания этиопатогенетических аспектов возбудителей.

Таким образом, вышеизложенное, безусловно, подчеркивает современную проблематику клиничко-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, и обосновывает актуальность диссертационного исследования Тянь Н.С., целью которого явилось усовершенствование дифференциальной диагностики различных форм заболеваний, вызванных бетагерпесвирусами человека 6А/В, основанную на клиничко-лабораторных показателях с оценкой степени активности вирусов, для оптимизации тактики ведения пациентов.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Научная новизна исследования заключается в расширении сведений о видовом разнообразии бетагерпесвирусов человека 6А/В у детей с различными нозологическими формами заболеваний.

Автором описаны клиничко-лабораторные особенности бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей разных возрастных групп.

Установлено преобладание ВГЧ-6В у пациентов с респираторным синдромом вне зависимости от нозологической формы.

Разработан новый способ дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами, основанный на комплексном учете доступных клинико-лабораторных данных (определение в цельной крови ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6А/В методом качественной ПЦР для выявления в режиме реального времени с последующим анализом уровней пороговых циклов (Ct), которые отражают количество циклов амплификации до момента начала детекции ДНК вируса в образце), что подчеркивает его применимость как в амбулаторном, так и стационарном звене оказания помощи.

Определена взаимосвязь уровня вирусной нагрузки в цельной крови с нозологической формой инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В.

Разработанный алгоритм клинико-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей позволяет верифицировать этиологическую роль вируса и исключить хВГЧ-6А/В, что влияет на дальнейшую тактику лечения и диспансерного наблюдения.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Результаты диссертационного исследования Тянь Н.С. имеют практическую и теоретическую значимость, а именно, описана клинико-лабораторная характеристика бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей с разными нозологическими формами заболеваний.

Предложены подходы к решению проблемы гипердиагностики активной формы ВГЧ-6А/В инфекции, основанной на обнаружении ДНК вируса в цельной крови методом полимеразной цепной реакции у детей с респираторным и лимфопролиферативным синдромами.

Установлен показатель диагностически значимой концентрации вируса в цельной крови методом качественной ПЦР, позволяющий косвенно оценить вирусную нагрузку без финансовых затрат на выполнение более дорогостоящего метода – количественного исследования.

Практическую ценность имеет рекомендация для пациентов с клинической картиной инфекционного мононуклеоза включать в план этиологического поиска исследования на маркеры ВГЧ-6А/В для своевременной регистрации заболевания и проведения диспансерного наблюдения. Разработанные способ и алгоритм по верификации различных форм ВГЧ-6А/В инфекции направлены на рациональный подбор терапии.

Оценка содержания диссертации и завершенности ее в целом

Диссертация Тян Натальи Сергеевны оформлена в традиционном стиле, изложена на 129 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 14 таблицами, 25 рисунками и 3 клиническими примерами.

Состоит из введения, глав, посвященных обзору литературы, описанию материалов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Глава 1 содержит литературные сведения об этиопатогенезе, эпидемиологии, клинических проявлениях и диагностике ВГЧ-6А/В инфекции. Особое внимание автором уделено особенностям течения заболеваний, вызванных различными видами бетагерпесвирусов. Подробно рассмотрен актуальный вопрос – сочетанное течение герпесвирусной и новой коронавирусной инфекций при различных формах заболеваний. Приведены современные данные о принципах лабораторной диагностики ВГЧ-6А/В инфекции, существующих подходах к терапии.

В главе 2 структурированы и подробно изложены данные о группах пациентов и проведенных лабораторных и инструментальных исследованиях. Представлены использованные методы статистической обработки полученных результатов.

В главе 3 изложены анамнестические и клинические данные, характеризующие бетагерпесвирусную инфекцию 6А/В, отражены различия в возрастной структуре заболевших различными видами ВГЧ-6А/В. Приведено статистическое обоснование пороговой величины – диагностического значения порогового цикла амплификации ВГЧ-6А/В в качественной ПЦР, которая, как показано в работе, может использоваться для определения диагностически значимой концентрации вируса. Впервые описана распространенность

различных видов ВГЧ-6А/В у детей с респираторным синдромом. Установлено превалирование ВГЧ-6В (84%) вне зависимости от нозологической формы. В диссертации представлены 3 клинических примера (включая семейный случай хи-ВГЧ-6А/В статуса с применением полногеномного секвенирования ВГЧ-6А для проведения филогенетического анализа) наглядно подчеркивают проблемы диагностики заболеваний, ассоциированных с ВГЧ-6А/В.

В главе 4 описана разработанная автором собственная модель дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей, характеризующаяся высокими показателями чувствительности (91,3%) и специфичности (94,4%).

В главе 5 обобщены и систематизированы полученные автором данные, характеризующие инфекционный мононуклеоз различной этиологии у детей, подробно рассмотрены особенности течения заболевания в зависимости от возбудителя.

В главе 6 представлен разработанный алгоритм, основанный на качественном и количественном исследовании крови методом ПЦР, серологическом методом ИФА и включающий верификацию различных форм ВГЧ-6А/В, в том числе хиВГЧ-6А/В.

В заключении обобщены и структурированы полученные автором данные, подведены итоги, обсуждены результаты и проведен их сравнительный анализ с данными других исследователей.

В списке использованных литературных источников представлены 184 научные публикации отечественных (65) и иностранных (119) авторов, более 90% - за последние 10 лет.

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

Диссертация Тянь Натальи Сергеевны базируется на репрезентативном объеме выборок и адекватности методологических подходов, выполнена на современном научно-методическом уровне в соответствии с поставленной целью.

Достоверность полученных данных и обоснованность результатов работы Тянь Н.С., научных положений, выводов и практических рекомендаций

обусловлены формированием однородных групп пациентов и достаточным объемом проведенных исследований (249 пациентов в возрасте от 1 месяца до 17 лет включительно), а также адекватным использованием методов статистической обработки данных.

Обоснованность и достоверность результатов проведенной работы убедительны, что подтверждается дизайном исследования. Группы наблюдения подобраны корректно для полного сравнительного анализа полученных данных и усовершенствования дифференциальной диагностики различных форм заболеваний, вызванных ВГЧ-6А/В.

Корректная статистическая обработка, проведенная с использованием современных методов статистического анализа (проведение ROC-анализа, построение дискриминантной модели), достаточный объем выполненных исследований позволяет судить о высокой значимости диссертационного исследования и полученных выводов

Сформулированные автором Тянь Н.С. результаты, выводы и практические рекомендации аргументированы и отражают суть исследования, а также удовлетворяют современным требованиям и соответствуют названию диссертации, цели и поставленным задачам и научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.22. Инфекционные болезни, пунктам 1, 2, 3 паспорта специальности «Инфекционные болезни».

Результаты работы апробированы на научно-практических конференциях и Всероссийских Конгрессах (2022–2023 гг.) и широко освещены в печати: 13 публикаций, из них 5 статей в журналах ВАК.

Результаты исследования внедрены в практику работы клиники ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №106» Детские поликлинические отделения №37 и №78, ООО «ПитерКлиника» (Санкт-Петербург). Основные положения диссертации используются в учебном процессе на циклах «Инфекционные болезни» на кафедре инфекционных заболеваний у детей ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ МЗ РФ.

Подана заявка на изобретение «Способ дифференциальной диагностики латентной и активной форм ВГЧ-6 инфекции у детей», приоритетная справка №2023111087 от 27.04.2023.

Автореферат оформлен в соответствии с имеющимися требованиями, изложен на 22 страницах машинописного текста, содержит основные этапы проведенного исследования, выводы и рекомендации, иллюстрирован достаточным количеством рисунков и таблиц.

В целом положительно оценивая диссертационную работу Тянь Н.С. необходимо отметить, что в ней имеются стилистические погрешности, некоторое дублирование материалов, представленных в таблицах и на рисунках, которые не повлияли на общую положительную оценку выполненного исследования.

Замечания и вопросы по содержанию работы

1. С чем Вы связываете высокие уровни вирусной нагрузки по ВГЧ-6А/В, определенные Вами количественным методом ПЦР?
2. Насколько воспроизводимо исследование показателя St в реальной клинической практике?
3. В Вашем исследовании выделена группа пациентов с одновременным выделением ДНК ВГЧ-6А и ВГЧ-6В в крови. С чем это связано и проводилось ли сравнение клинической симптоматики в пациентов с моно-инфекцией ВГЧ-6В и коинфекцией ВГЧ-6А и ВГЧ-6В?
4. Вами обследовано более 250 пациентов с инфекцией, вызванной ВГЧ-6А/В. Сколько случаев хромосомно-интегрированного статуса верифицировано Вами?
5. Какова эффективность предложенного Вами алгоритма диагностики активных и латентных форм? Каков процент диагностики активных форм инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В, у пациентов с качественным определением ДНК ВГЧ-6А/В в крови после применения вашего алгоритма?

Заключение

Диссертация Тян Натальи Сергеевны на тему «Клинико-лабораторная характеристика заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.1.22. Инфекционные болезни, является самостоятельным законченным научно-квалификационным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований, решена актуальная научно-практическая задача, имеющая существенное значение для педиатрии и инфекционных болезней – усовершенствование дифференциальной диагностики различных форм заболеваний, вызванных бетагерпесвирусами человека 6А/В, основанной на клинико-лабораторных показателях с оценкой степени активности вирусов, для оптимизации тактики ведения пациентов.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертационная работа Тян Натальи Сергеевны полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции Постановления Правительства РФ от 26.09.2022 №1690), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достойна присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Официальный оппонент
доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник
клинического отдела инфекционной патологии
ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора


Мелехина Елена Валериевна

Подпись д.м.н., Мелехиной Е.В. заверяю.
Ученый секретарь
ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора
кандидат медицинских наук


28.03.2024

Никитина Татьяна Станиславовна

Адрес учреждения: 111123, г.Москва, ул. Новогиреевская, дом.3а
Сайт организации: <https://www.crie.ru>, телефон: +7 (495) 974-96-46, Электронный адрес: crie@pcr.ru