

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Горячевой Ларисы Георгиевны
на диссертацию Прийма Екатерины Николаевны на тему:

**«Влияние этиотропной терапии и молекулярной гетерогенности вируса
на клиническое течение острого вирусного гепатита В»,**

представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни

Актуальность исследования. Вирусный гепатит В представляет собой серьезную проблему для здравоохранения всех стран мира и является одной из основных причин развития хронических заболеваний печени, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Несмотря на большие успехи, достигнутые масштабной вакцинацией против гепатита В (ГВ), около трети населения Земли, по данным ВОЗ, являются носителями серологических маркеров перенесенной или текущей HBV-инфекции. Безусловно, сегодня имеет место резкое снижение острых форм заболевания, но окончательно данная проблема не решена. Повсеместно и во всех возрастных группах у взрослых продолжают регистрироваться случаи острого ГВ, в том числе и тяжелые формы заболевания с летальным исходом. Определенные успехи достигнуты в лечении хронического гепатита В (ХГВ) при использовании интерферонов и нуклеозид(тид)ных препаратов, которые способны подавить репликацию вируса и предотвратить развитие тяжелых осложнений. Однако полное выздоровление при их применении достигается крайне редко. В случаях острого течения болезни существует существенная разница в частоте выздоровления у взрослых и детей. У взрослых пациентов она значимо выше, и, тем не менее, угроза хронизации инфекционного процесса остается. Тактика же противовирусной терапии острого ГВ до настоящего времени окончательно не отработана и ее эффективность мало изучена. Проведенные ранее молекулярно-генетические исследования позволили выделить уже 10 генотипов вируса (от А до J) и наличие их субтипов, «мутантных штаммов», характеризующихся различной клинической картиной и чувствительностью к отдельным противовирусным препаратам. Вопрос о влиянии генотипов HBV и первичных мутаций в его геноме, способных привести к лекарственной резистентности, особенно при тяжелом течении заболевания, остается

окончательно не решенным и требует дальнейшего изучения. В связи с этим диссертационное исследование Прийма Е.Н., направленное на изучение именно этих аспектов, безусловно, является своевременным и актуальным.

Целью данного исследования явилась оптимизация тактики терапии острого вирусного ГВ при тяжелом течении заболевания с учетом молекулярной гетерогенности вируса.

Задачи диссертационного исследования конкретны, их решение позволяет раскрыть цель, поставленную автором.

Научная новизна исследования не вызывает сомнений. Впервые автором представлена молекулярно-генетическая вариабельность штаммов НВV у больных с тяжелой формой острого ГВ, циркулирующих на территории Санкт-Петербурга в период 2009 – 2017гг. и определена их клиническая значимость.

Автором получены новые данные о целесообразности использования этиотропных средств в лечении тяжелых форм острого ГВ и определена эффективность и безопасность их применения.

Впервые на основании комплексного ретроспективного анализа клинико-лабораторных и инструментальных данных больных, перенесших острый ГВ в тяжелой форме и получивших этиотропную терапию, проведена оценка исхода заболевания с подтверждением их выздоровления.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. Работа Е.Н. Прийма выполнена на достаточном количестве ретроспективного и проспективного материала (185 чел.) Диагностика острого ГВ, определение его гетерогенности получены на основе использования современных лабораторных методов исследования и высокочувствительных тест-систем. Для оценки эффективности и безопасности использования препаратов из группы НА у больных острым ГВ тяжелой степени тяжести диссертантом были отобраны группы в количестве по 40 человек (опытная и сравнения), сопоставимые по тяжести заболевания, полу и возрасту, что отвечает требованиям доказательной медицины и дает возможность оценить клинические закономерности течения и исходов болезни.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программного пакета SPSS Statistica 2.0 с последующим анализом, включающим параметрические и непараметрические методы.

Данные методы статистики позволяют утверждать о полной достоверности представленных результатов.

Объем клинического материала и проанализированной информации достаточен для получения репрезентативных результатов, математической обработки данных и получения обоснованных выводов. Достоверность результатов исследования не вызывает сомнения. Положения, выдвинутые автором, выводы и рекомендации полностью основаны на результатах проведенных исследований и вытекают из материалов диссертации.

Теоретическое и практическое значение результатов исследования, внедрение в практику. Бесспорная ценность для науки и практики выводов и рекомендаций, вытекающих из диссертационного исследования, заключается в установлении клинической значимости различных генотипов/ субтипов HBV и его мутаций при тяжелом течении острого ГВ, а также в объективной оценке эффективности использования нуклеозидных аналогов (НА) при лечении данной категории больных.

Основные положения диссертации доложены на 5 научных форумах международного, всероссийского и регионального уровня, внедрены в работу практических учреждений города - СПб ГБУЗ «Городская поликлиника 107», СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», используются в педагогическом процессе кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России и внесены Федеральные клинические рекомендации «Острый вирусный гепатит у взрослых» (2019г).

По результатам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень, рекомендованных ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций.

Общая характеристика структуры и содержания диссертации. Диссертационное исследование Е.Н. Прийма оформлено в традиционном стиле, изложено на 115 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, а также 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 161

литературный источник; из них 42 отечественных и 119 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 16 рисунками.

Глава 1 - Обзор литературы. Содержит 3 раздела. Первый посвящен эпидемиологическим и клинико-лабораторным особенностям течения острого ГВ. В нем диссертант представил показатели заболеваемости и летальности от острого ГВ в различных странах. Несмотря на то, что вакцинация против ГВ внедрена в национальные календари прививок 184 стран мира и ею охвачено более 80% населения планеты, ежегодно от острого ГВ продолжает умирать до 130 000 человек. Автор дает клинические и биохимические критерии оценки тяжести заболевания, в том числе и оценку степени тяжести отдельных симптомов, знание которых позволяет на ранних стадиях болезни заподозрить ее тяжелое течение.

Второй раздел, посвященный молекулярно-генетической характеристике HBV и ее клинической значимости, читается с большим интересом. В нем представлены достижения современной молекулярной вирусологии, структура и жизненный цикл вируса. Подробные сведения даны о таксономическом разделении HBV на генотипы, субтипы и широте их распространенности, в том числе, и на территории РФ и Северо-Западного округа. Указывается на наличие связи между генотипами вируса и путями их передачи, а также о влиянии генотипа вируса на течение, исход заболевания и эффективность этиотропной терапии. В обзоре показано влияние на течение и лечение ГВ и точечных мутаций, которых сегодня известно более 150. Автором представлены наиболее распространенные мутации и их клиническое значение, однако этот вопрос остается не до конца изученным

В третьем разделе обзора показаны возможности современной этиотропной терапии HBV-инфекции и приведены рекомендации различных комиссий (Американской - AASLD, Азиатско-Тихоокеанской - APASL и Европейской - EASL), входящих в Ассоциацию по изучению заболеваний печени, по отбору больных на ПБТ и лечебной тактике, а также неоднозначность мнений специалистов в отношении эффективности интерферонотерапии при ХГВ, проведен анализ научных данных по использованию препаратов группы НА у больных острым и хроническим ГВ. Дана сравнительная характеристика препаратов этой группы. Однако большинство этих исследований касалось лечения пациентов с ХГВ. Работ,

посвященных лечению острого ГВ, недостаточно, а противоречивость результатов в решении отдельных вопросов указывает на необходимость продолжения этих исследований.

Глава 2 - «Материалы и методы исследований». Автором выполнен ретроспективный анализ медицинских карт и проспективное наблюдение пациентов, госпитализированных в СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина» в 2009–2017 гг. с диагнозом острый ГВ – всего в исследование включено 185 пациентов.

Диагноз острого ГВ и степень тяжести выставлялся на основании клинико-эпидемиологических, лабораторных и инструментальных данных. В работе были использованы как рутинные биохимические, иммуноферментные методы исследования, так и самые современные молекулярно-биологические. Для этиологического подтверждения диагноза применялись отечественные тест-системы ИФА (выявление HBsAg, HBeAg, HBsAb, HBeAb, HBcorIgM, HBcorIgG), качественное и количественное определение ДНК HBV методом обратной транскрипции и ПЦР в режиме реального времени. Секвенирование HBV проводилось на генетическом анализаторе ABI-PRISM 3100 с целью определения генотипа/субтипа вируса и мутаций pre-core/core областей генома с использованием зарубежных тест-систем.

В лечении 40 больных с тяжелым течением ГВ были использованы НА - энтекавир или телбивудин (основная группа). Представлен дизайн обследования этих пациентов. Мониторинг результатов клинико-лабораторных показателей осуществлялся в течении 48-56 недель, а для оценки отдалённых исходов заболевания ежегодно на протяжении пяти лет.

Диссертантом выполнен ретроспективный анализ 40 пациентов, госпитализированных в период 2009–2012гг., с тяжёлым течением острого ГВ сопоставимых по возрасту и полу с основной группой, которым не проводилась этиотропная терапия (группа сравнения).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью лицензионного пакета программ SPSS Statistica 2.0, автором использованы универсальные методы статистической обработки данных с определением средних значений и стандартной ошибки среднего значения ($M \pm m$), непараметрические методы - критерии Манна-Уитни и χ^2 , проведен расчет относительного риска изучаемых факторов.

Главы 3, 4, 5 собственных данных исследования. В главе 3 представлена клинико-эпидемиологическая и лабораторная характеристика острого ГВ. Частота выявления больных тяжелой степени тяжести составила 44.3%, из них с признаками ОПЭ - 53,6%. В ходе исследования установлено, что фактором, ассоциированным с тяжелым течением болезни, являются заболевания билиарного тракта. Изучение генетических характеристик вируса у данной категории больных установило наличие у них 2-х генотипов - D (87.5%) и A (12,5%), но не выявило связи субтипов с тяжестью болезни. Автор показал, что «мутантным» штаммом HBV инфицированы 30% пациентов, у которых в два раза чаще развивался геморрагический синдром (90,9% и 46,0), эритематозная сыпь (36,4% и 15,1%) и выявлялся более высокий уровень билирубина ($334,0 \pm 26,9$ и $260,0 \pm 3,2$ мкмоль/л). Установлено, что наличие мутаций вируса и уровень гипербилирубинемии могут расцениваться как возможные факторы неблагоприятного течения острого ГВ с дальнейшим развитием признаков ОПЭ.

В главе 4 представлены результаты лечения больных острым ГВ тяжелой степени тяжести препаратами телбивудин и энтекавир в сравнении с группой пациентов, не получавших этиотропную терапию. Результаты исследования свидетельствуют и об эффективности, и о безопасности этих НА. В ходе длительной терапии не было зарегистрировано нежелательных явлений. При назначении ПВТ в 2 раза быстрее купировались клинические симптомы ОПЭ и сокращалась длительность пребывания больного в отделении интенсивной терапии. Диссертантом установлено, что наличие мутаций вируса не влияло на динамику снижения АлАТ и общего билирубина, но замедляло темпы снижения вирусной нагрузки (ВН). Значимое снижение ВН регистрировалось к 12 неделе лечения НА, на 24 неделе терапии неопределяемый уровень ВН регистрировался у 70%, а на 32 неделе – у 100% пациентов. Сероконверсия по HBsAg к 24 неделе терапии была достигнута у 39,3% больных, инфицированных «диким» штаммом, и только у 8,3% - «мутантным» штаммом вируса. После сероконверсии по HBsAg на протяжении шести месяцев пациентам проведена консолидирующая терапия, общая продолжительность лечения составила 48-56 недель.

Глава 5 посвящена отдаленным результатам обследования пациентов, получивших этиотропную терапию. Клинико-лабораторный мониторинг на

протяжении 60 месяцев указывал на полное выздоровление пациентов, перенесших тяжелый острый ГВ, отсутствие у них функциональных и структурных нарушений печени. Вместе с тем, автору удалось выявить наличие прямой корреляционной связи между уровнем альбумина, показателем ПТИ и сроком наблюдения ($r=0,990$, $p=0,01$), которые значимо возрастали: альбумин с нижней границы референсного значения $38,8\pm 10$ г/л до $56,3\pm 1,2$ г/л, ПТИ с $87,0\pm 1,6\%$ до $98,1\pm 1,3\%$.

В заключении диссертантом суммированы, обобщены и обсуждены все результаты исследования, обоснованы выводы и положения, выносимые на защиту.

Выводы, которые делает диссертант, логично завершают обсуждение результатов, полностью отражают суть проделанной работы, соответствуют поставленным задачам и позволяют достичь цели исследования.

Автореферат Прийма Е.Н. составлен в классической форме, текст его написан хорошим литературным языком, полностью отражает материал, изложенный в диссертации, и соответствует требованиям ВАК.

Личное участие автора в проведении исследования. Е.Н. Прийма, совместно с научным руководителем была определена тема данного исследования. Самостоятельно Екатериной Николаевной проведен подбор и анализ данных отечественной и зарубежной научно-медицинской литературы по изучаемой проблеме. Ею проводилось клиническое обследование и наблюдение пациентов, включенных в исследование, сформированы группы исследования, проведен ретроспективный анализ медицинских карт, создана клиничко-лабораторная электронная база больных, а также выполнена статистическая обработка и анализ результатов, написана и оформлена в полном объеме диссертационная работа.

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В работе есть ряд стилистических ошибок, повторов. Жаль, что не представлены показатели полного выздоровления пациентов группы сравнения, анализ которой проводился по ретроспективным данным. При обсуждении результатов следует более четко давать сравнительную оценку с данными других исследователей. В заключении хотелось задать следующие вопросы:

1. Какова частота хронизации процесса у взрослых больных острым ГВ при безжелтушном и желтушном варианте болезни, целесообразно ли назначение НА больным со средней степенью тяжести острого ГВ?

2. С чем связано обнаружение HBeAg у пациентов с острым ГВ, вызванным вирусом с мутацией в области pre-core/core генома?

3. Достаточна ли длительность диспансерного наблюдения за больным, перенесшим острый ГВ – 12 месяцев?

Данные замечания не носят принципиального характера и не умоляют достоинства работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все вышеизложенное позволяет сделать заключение, что диссертационная работа Прийма Екатерины Николаевны «Влияние этиотропной терапии и молекулярной гетерогенности вируса на клиническое течение острого вирусного гепатита В», выполненная под научным руководством доктора медицинских наук, профессора Эсауленко Елены Владимировны, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – выявлены данные о молекулярно-генетической вариабельности HBV у пациентов с острым ГВ тяжелой степени тяжести и научно обоснована необходимость, использования у данных пациентов этиотропных препаратов из группы нуклеоз(ти)дных аналогов.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 01 октября 2018. №1168), предъявляемым Министерством образования и науки Российской Федерации к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Прийма Екатерина Николаевна

заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

Официальный оппонент,
доктор медицинских наук,
руководитель отдела вирусных гепатитов и
заболеваний печени Федерального
государственного бюджетного учреждения
«Детский научно-клинический центр
инфекционных болезней Федерального
медико-биологического агентства»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации.

Горячева Лариса Георгиевна

197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.9.

(812) 234-34-16, e-mail: goriacheva@list.ru

