

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Эмануэля Владимира Леонидовича
на диссертационную работу Мазяевой Екатерины Михайловны
на тему: «Клинико-лабораторная характеристика интратекального гомеостаза
при нейроинфекциях у детей», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальностям:

14.01.09- инфекционные болезни,
14.03.10 –клиническая лабораторная диагностика.

Актуальность темы. Не смотря на достижения медицинской науки в области фармакологических возможностей подавления инфекционных процессов, сохраняется высокая распространенность и, главное, тяжесть течения и высокий процент инвалидизирующих последствий нейроинфекций.

Актуальность продолжения поиска новых подходов к решению указанной проблемы, обусловлена, прежде всего, спецификой патогенеза нейроинфекций, патологическими процессами, происходящими в забарьерной зоне, то есть за гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ) и приводящим к изменениям интратекального гомеостаза.

При нейроинфекциях патологический процесс происходит как в крови, так и в интратекальном пространстве, что обусловлено, как правило, вирусемией и бактериемией. Известно, что за счет повышения проницаемости ГЭБ происходит усиленное поступление в цереброспинальную жидкость (ЦСЖ) высоко- и низкомолекулярных компонентов, действие которых направлено на устранение токсинов микроорганизмов, продуктов метаболизма, свободных радикалов, регуляцию кровотока и иммунных реакций. Однако при избыточном поступлении они способствуют чрезмерному воспалению, отеку головного мозга, повреждению мозговой паренхимы. При этом, степень выраженности интратекального воспаления определяет тяжесть течения и исход заболевания.

В современной литературе дискутируются вопросы о значении про- и противовоспалительных цитокинов, белков острой фазы (БОФ) для дифференциальной диагностики, оценки тяжести воспалительного процесса в ЦНС. В то же время закономерности развития интратекального воспаления и участие в них цитокинов и БОФ остаются не выясненными.

Выбранное автором направление исследования интратекального гомеостаза путем определения цитокинов и белков острой фазы в ЦСЖ при нейроинфекциях у детей, таким образом, является актуальной проблемой.

Автор соответственно и сформулировал цель исследования, как изучение состояния интратекального гомеостаза путем оценки уровня цитокинов и белков острой фазы в цереброспинальной жидкости при нейроинфекциях у детей. Для выполнения поставленной цели, определены и адекватные задачи исследования.

Решение поставленных в работе задач основано на углубленном клинико-лабораторном исследовании 137 пациентов, из них 42 с бактериальными гнойными менингитами, 53 с серозными менингитами, 20 с вирусными энцефалитами и 23 ребенка из группы сравнения ОРВИ с менингеальными явлениями. Комплексное клинико-неврологическое обследование всех пациентов проводилось с момента госпитализации больных в клинику ФГБУ НИИДИ ФМБА России, с последующим ежедневным динамическим осмотром в стационаре в течение всего периода госпитализации и амбулаторно после выписки через 6 и 12 месяцев. Это дало возможность оценить динамику течения заболевания.

В работе использованы как современные методы исследования цереброспинальной жидкости: метод твердофазного иммуноферментного анализа (для определения цитокинов в ЦСЖ) и метод количественной иммунотурбидиметрии (для определения белков острой фазы в ЦСЖ), так и стандартные способы определения общего содержания белка и цитолиза ликвора с дифференциацией на моно- и полинуклеары. Исследование проводилось в острый период и период ранней реконвалесценции (на 5 сутки

при БГМ, на 10-14 сутки при СМ). Полученные в ходе исследований данные подвергнуты тщательной математической обработке методами параметрической и непараметрической статистики. Статистический анализ полученных результатов осуществлялся с применением пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2003-2007 и Statistica 7 for Windows. Изложенное позволяет говорить о высоком методическом уровне работы и достоверности представленных в диссертации материалов.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В комплексном исследовании Е.М. Мазаевой благодаря применению информативных лабораторных методов получены достоверные и новые сведения о количественных характеристиках изменений концентраций белков острой фазы и цитокинов в цереброспинальной жидкости при серозных менингитах, бактериальных гнойных менингитах и вирусных энцефалитах, на основании которых сформулированы доказательные критерии характера течения заболеваний в зависимости от этиологии и возраста.

Автором диссертационного исследования установлен характер изменений провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-10, ИЛ-4) цитокинов в цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах, серозных менингитах и вирусных энцефалитах, показана их прогностическая и патогенетическая роль в формировании тяжести заболевания.

Используя адекватные лабораторные технологии определено значение белков острой фазы (СРБ вч, альбумин, альфа1-АТ, альфа2-МГ, гаптоглобин, трансферрин) для мониторинга за течением заболевания и эффективностью терапии при бактериальных гнойных менингитах.

Автором впервые обращено внимание на возможность определения концентрации гаптоглобина в цереброспинальной жидкости для ранней дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных менингитов у детей.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов.

Автором выполненного исследования доказана информативность определения цитокинов и белков острой фазы в ЦСЖ для оценки интратекального гомеостаза в характеристике патогенетических звеньев заболеваний, позволяющих провести раннюю диагностику серозного и гнойного воспалительного процесса оболочек мозга и индивидуализировать течение заболеваний, что в свою очередь снижает частоту осложнений и инвалидизации детей с нейроинфекциями.

Показана эффективность предложенной автором для практического здравоохранения лабораторной технологии определения концентрации гаптоглобина в цереброспинальной жидкости для дифференциальной диагностики этиологии менингитов.

Реализация и апробация результатов исследования.

Материалы диссертационного исследования изложены в 15 печатных работах (из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 2 статьи в журналах не входящих в перечень ВАК, 10 – в материалах научно - практических конференций), опубликованных по теме диссертации, а также в заявке на изобретение «Способ дифференциальной диагностики менингитов у детей» (приоритетная справка № 2013158789 от 27.12.2013 года) содержатся все основные положения данной работы.

Результаты работы доложены и обсуждены на 9-ти международных, Всероссийских и региональных научно-практических конференциях: III

Российской НПК «Актуальные проблемы бактериальных и вирусных менингитов» (Москва, 2012г); XXX III итоговой научно - практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей» (Санкт - Петербург, 2013); на научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии - 2013» (Санкт - Петербург, 2013); III Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2013); IV Международном симпозиуме «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии» (Санкт – Петербург, 2013); V российском форуме «Педиатрия Санкт-Петербурга: Опыт, инновации, достижения» (Санкт – Петербург, 2013); VIII Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: Проблемы и пути их решения» (Санкт – Петербург, 2013); XII Конгрессе детских инфекционистов России (Москва, 2013); на VI Российском форуме «Здоровье детей: профилактика социально значимых заболеваний» (Санкт - Петербург, 2013)). Работа удостоена диплома II степени на конкурсе молодых ученых в рамках XII Конгресса детских инфекционистов России (Москва, 2013).

Результаты исследования внедрены в практическую работу отделения нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ НИИДИ ФМБА России (197022 г. Санкт – Петербург, ул. Профессора Попова, д.9, тел. (812) 234-60-04, e-mail: niidi@niidi.ru), инфекционных отделений Детской инфекционной больницы №5 Н.Ф. Филатова г. Санкт - Петербурга (192289 г. Санкт-Петербург, ул. Бухарестская, д.134 тел (812): 177-77-77 email: pol@dib5.spb.ru), Архангельской областной детской клинической больницы им П. Г. Выжлецова (163002 г. Архангельск, пр.Обводный канал, д.7, тел. (8182)68-38-90, e-mail: odkb@atnet.ru), Вологодской детской областной больнице (160022 г. Вологда, Пошехонское шоссе, д.31, тел. (8172) 71-65-41, e-mail: www.voddb35.ru) и республиканской детской больницы республики Коми, г. Сыктывкар (167981 Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Ленина, д. 73, тел. 284-003, e-mail: minzdrav@hostkomi.ru).

Структура и содержание работы.

Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 109 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», 3-х глав с изложением результатов исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 130 источников (82 на русском и 48 на иностранных языках). Диссертация иллюстрирована 28-ю таблицами, 5-ю диаграммами.

В 1-й главе «Обзор литературы» автор анализирует представления о клинических и лабораторных проявлениях различных этиологических вариантов менингитов. Представлены данные отечественной и зарубежной литературы о механизмах развития нарушений иммунного статуса и лабораторных критериях этих нарушений при изучаемом заболевании. Подробно проанализированы возможности применения традиционных лабораторных параметров, показано, что в настоящее время нет достаточно веских критериев, позволяющих проводить дифференциальную диагностику различных форм менингитов. Обзор написан на основании данных 82 российских и 48 зарубежных источников литературы. Литературный обзор диссертации демонстрирует отличное знание проблемы. Как видно из обзора многие обсуждаемые вопросы нуждаются в дальнейшем изучении. Иначе говоря, обзор носит, несомненно, аналитический характер и позволяет логично сформулировать цели и задачи исследования.

Главы 2-5 являются основными в диссертации, т.к. в них изложена сущность настоящего научного исследования. Во второй главе диссертации представлены объекты и методы исследований. Для решения задач, поставленных в работе, было обследовано 137 пациентов, из них 42 с бактериальными гнойными менингитами, 53 с серозными менингитами, 20 с вирусными энцефалитами и 23 ребенка из группы сравнения ОРВИ с менингеальными явлениями.

Всем больным проведено современное комплексное клиническое, функциональное и лабораторное обследование, включающее в себя варианты

микробиологических технологий, молекулярно-биологические методы, позволяющие достоверно верифицировать заболевание.

Для статистической обработки результатов исследований использованы методы вариационной статистики с использованием параметрических и непараметрических методов: критерий Стьюдента, критерий различия Хи-квадрат Пирсона.

В третьей главе, посвященной анализу клинических характеристик нейроинфекций при исследованных нозологических формах, а втором выявлена специфика определенных клинических симптомов в зависимости от возраста и тяжести течения заболеваний. Так, автором установлено, что при бактериальных гнойных менингитах крайняя степень тяжести заболевания развивалась у детей в возрасте до 3-х лет с гемофильными менингитами и осложнялась развитием отека головного мозга. При серозных менингитах у детей заболевание имело среднетяжелую степень тяжести вне зависимости от возраста и этиологии. Вирусные энцефалиты во всех возрастных группах имели тяжелую степень тяжести, с развитием неврологического дефицита, особенно при герпесвирусной этиологии. Представленный в этой главе материал носит не только описательный характер, но и является основой для проведения подробного и целенаправленного клинико-лабораторного анализа, проведенного в последующих главах.

В четвертой главе представлен подробный анализ состава цереброспинальной жидкости у больных с изучаемыми вариантами нейроинфекции, а также материал, полученной в контрольной группе из 23 человек с острой респираторной инфекцией с менингеальными явлениями.

Автором в корректно проведенном и достаточно презентабельном исследовании изучен широкий спектр состава ЦСЖ, охватывающий ключевые характеристики системного ответа на инфекцию с применением адекватного методического подхода: серологические методы с применением иммуноферментной технологии, молекулярно-биологические – ПЦР

диагностикумы, продукция иммуноглобулинов, уровень цитокинов и другие лабораторные методы.

Важно еще раз отметить, что исследование основано на хорошо верифицированных клинических группах, что обусловлено применением достаточно числа информативных инструментальных и клинических методов, выполненных в специализированном высоко престижном медицинском учреждении с участием ведущих специалистов страны в указанной области медицинской науки и практики.

В результате проведенного, безусловно, изящного исследования, автором продемонстрирована эффективность использованных лабораторных методов диагностики, доказательность которых базируется на правильно выбранных методах статистического анализа.

В пятой главе, по существу проводится комплексный клинко-лабораторный анализ обширного материала с верификацией патогенетических закономерностей, позволивших автору, по существу сформировать алгоритм диагностики и оценки вероятности характера течения заболевания, на основании которых предлагается целенаправленное применение различных лабораторных технологий, позволяющих улучшать эффективность лечебно-диагностического процесса. Так, данные, полученные Е.М.Мазаевой доказывают наличие определенных различий в цитокиновом статусе и организменном ответе на развитие менингитов, в зависимости от их этиологии, а также возможность использования определенного комплекса лабораторных технологий для индивидуализации диагностики и, следовательно, проводимой терапии.

Выводы и практические рекомендации возражений не вызывают, они логично вытекают из содержания работы. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы несомненен. Автореферат Е.М. Мазаевой полностью соответствует содержанию диссертации.

Замечания по диссертационной работе.

При рецензировании представленных материалов, по существу использованных аналитических методов принципиальных замечаний нет. Однако необходимо отметить целесообразность продолжения исследований по разработанному дизайну, но в формате многоцентрового исследования.

Получение более масштабного материала позволит объективно оценить информативность предлагаемых Мазаевой Е.М, критериев путем расчета диагностической чувствительности и специфичности, на основании которых можно рассчитывать индексы правдоподобия и использовать для дифференциальной диагностики форм заболевания.

В порядке замечания, необходимо отметить, что при изложении результатов лабораторных исследований, представляется важным более подробно изложить аналитические характеристики выполненных измерений, таких как вариация методов и метрологическая прослеживаемость. Использованный автором способ выражения характера распределения количественных величин был бы более убедительным при выражении в таблицах не ошибки среднего ($M \pm m$), а величины доверительного интервала ($M \pm \sigma$).

Изложенные замечания носят скорее рекомендательный характер и не умаляют достоверность полученных результатов.

В связи с актуальностью использования результатов работы в клинической практике представляется нужным внедрение разработанных методических подходов в формате пособия для врачей, а также актуализации действующей «Номенклатуры простых медицинских услуг» с включением предлагаемых автором лабораторных технологий.

В этой связи, прошу соискателя ответить на вопрос: Каковы перспективы внедрения в практическое здравоохранение определения цитокинов в ЦСЖ с учетом необходимости экспресс-диагностики?

Заключение.

Диссертация Мазаевой Екатерины Михайловны «Клинико-лабораторная характеристика интратекального гомеостаза при нейроинфекциях у детей», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Н.В. Скрипченко и доктора биологических наук Л.А. Алексеевой, является научной квалификационной работой, в которой решена актуальная задача оценки интратекального гомеостаза при нейроинфекциях у детей, имеющая важное значение для инфектологии и клинической лабораторной диагностики.

Диссертация соответствует требованиям п.9 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 N 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.09 - инфекционные болезни, 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент-

Заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», доктор медицинских наук профессор

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, 6-8

Тел. +7(812) 233-97-26

E-mail: vladimirem1@gmail.com

29.08.2014



Владимир Леонидович Эмануэль

