



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ГБОУ ВПО СПбГПМУ МЗ РФ
д.м.н. профессор Насыров Р.А.

2016 г.

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе ассистента кафедры
инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет»

Манаповой Эльвиры Равиловны на тему: «Клинико-иммуногенетические
особенности ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекций, их значение для
мониторинга противовирусной терапии хронического гепатита С»,
представленную к защите на соискание ученой степени доктора
медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Актуальность темы. Важными проблемами в инфекционной патологии остаются сохраняющиеся высокие уровни заболеваемости и темпы прироста новых случаев инфицирования ВГС и ВИЧ. Вследствие пересекающихся путей передачи частота сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ составляет 60–80% среди потребителей инъекционных наркотиков и 16–25% среди пациентов с риском инфицирования половым путем, особенно среди гомосексуальных мужчин в крупных городах западных стран. Сочетанная инфекция приводит к более быстрому прогрессированию заболевания у пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией, особенно у лиц с низким числом CD4+лимфоцитов, вследствие этого внимание исследователей по всему миру к проблеме ведения больных с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией не ослабевает.

Несмотря на достигнутые успехи в области всестороннего изучения ВГС и ВИЧ-инфекции, многие вопросы патогенеза, особенно иммунологического контроля, формирования специфического иммунного ответа, остаются неясными, особенно при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции. Вышеуказанное позволило автору сформулировать цель исследования: на основе определения диагностических взаимосвязей иммуноцитокинного и иммуногенетического статусов обосновать клинико-патогенетическую эффективность и прогностические критерии анти-ВГС терапии при монотечении и в сочетании с ВИЧ-инфекцией.

Новизна исследования и полученных результатов.

Новыми данными, установленными автором, являются полученные результаты о клинко-иммунологических особенностях сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции на ранних сроках заболевания (до 1 года); при парентеральном инфицировании установлено более агрессивное течение сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ (с развитием саркомы Капоши, ВИЧ-энцефалопатии), сопровождающееся подавлением Т-хелперного звена и активацией цитотоксического звена иммунного ответа.

Новые данные приводит диссертант по сравнительному анализу у пациентов с моно-ВГС, ВИЧ и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями взаимосвязи генотипов по интерлейкину-28В с другими факторами и оценку их значения в прогнозировании вирусологических ответов при противовирусной терапии (ПВТ) ХГС.

Впервые автором изучены клинко-лабораторные показатели у пациентов с ХГС (моно- и в сочетании с ВИЧ) при использовании ПВТ стандартные-ИФН- α (индукционный метод) или Пег-ИФН- α в комбинации с рибавирином, включая оценку вирусологического ответа на 12 неделе лечения и 12 неделе наблюдения для прогнозирования эффективности анти-НСV терапии. Доказана эффективность комбинированной ПВТ с использованием индукционного метода введения стандартных-ИФН- α (Ст-ИФН-альфа) в сравнении с Пег-ИФН-альфа в сочетании с рибавирином - частота достижения стойкого вирусологического ответа высока у пациентов с генотипом СС rs12979860 как при назначении Ст-ИФН- α , так и при Пег-ИФН- α у моноинфицированных-ВГС (80% и 67%) и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (78% и 74%). Впервые детализированы нежелательные явления, в том числе тромбоцитопения и нейтропения при индукционном методе назначения Ст-ИФН- α и Пег-ИФН- α в комбинации с рибавирином; при назначении Пег-ИФН- α на всех сроках противовирусной терапии имеет место достоверное ($p < 0,001$) снижение числа тромбоцитов на 20%–35%, с преобладанием у пациентов ВГС-моноинфекцией (1b генотипа, женского пола в возрасте от 30-50 лет, высокой вирусной нагрузкой РНК ВГС в ПЦР, с F0-F2), не требующего дополнительной медикаментозной коррекции, а также крайне тяжелая степень нейтропении ($< 0,5 \cdot 10^3/\text{мкл}$) - у 4,5% ($p < 0,01$).

Автор представил результаты применения новых схем включения цитокиновых препаратов ИЛ-1 β и ИФН γ в качестве терапии сопровождения при повторном курсе лечения (ИФН- $\alpha 2b$ и рибавирином), стойкий вирусологический ответ был получен у 44,4% пациентов с моно-ВГС (1b генотип), с неблагоприятным генетическим фоном по интерлейкину-28В и не ответивших на предыдущую ПВТ. Впервые разработаны различные схемы

комбинированной ПВТ с использованием терапии сопровождения с включением рекомбинантного интерлейкина-1 β и интерферона- γ .

Клинико-лабораторный мониторинг комбинированной 48 недельной противовирусной терапии ХГС (Ст-ИФН-альфа или Пег-ИФН-альфа с рибавирином) при моно-ВГС и сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ позволил автору установить прогностическое значение оценки вирусологического ответа на 12 нед. лечения и 12 нед. наблюдения; соотношения отдельных факторов Т-клеточного иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+), ИРИ, NK-клеток, цитокинового статуса (повышением уровня ИФН γ и ИЛ-10, снижением ИЛ-1 β) и коррелирующего с ними интегрального показателя воспаления СОЭ в достижении стойкого вирусологического ответа.

Впервые предложенная диссертантом схема применения глюкозаминилмурамилдипептида (препарат «ликопид») корригировала «раннюю» нейтропению (до 12 недели ПВТ), повышала резервные возможности функционально-метаболической активности гранулоцитов, что позволило не снижать дозы интерферонов и повышать эффективность при индукционном методе назначения Ст-ИФН- α и Пег-ИФН- α в комбинации с рибавирином.

Практическая значимость полученных результатов.

В практическом плане данная диссертационная работа демонстрирует необходимость индивидуального подхода к подбору средств и схем для рациональной ПВТ ХГС с учётом иммунологического и противовирусного ответа на более ранних сроках заболевания как ВГС, так и ВИЧ-инфекцией. Автором даны конкретные практические рекомендации по показаниям к назначению ПВТ ХГС на ранних сроках заболевания и схема индукционного метода назначения Ст-ИФН- α в комбинации с рибавирином. Исследования, проведённые, Манаповой Э.Р. расширяют научную обоснованность представления о причинно-факторной взаимосвязи недостаточности иммунного ответа при естественном течении инфекций и при ПВТ у пациентов с ХГС, требующих в дальнейшем новых методов иммунокорригирующей терапии. На основании комплексной оценки вирусологических и иммунологических факторов расширены показатели иммунологического мониторинга в рамках диспансерного наблюдения за пациентами сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией с включением отдельных цитокинов (ИЛ-1 β , ИФН- γ , ИЛ-10, ИЛ-2) для прогнозирования адекватного иммунного ответа при естественном течении инфекции и проведении противовирусной терапии ХГС.

Представлены схемы назначения отечественных препаратов для пациентов с ХГС (генотип 1b), неблагоприятным генетическим фоном по

интерлейкину-28В и не ответивших на предыдущую терапию, а также основные показания к назначению глюкозаминилмурамилдипептида для коррекции нейтропении.

Практические рекомендации отличаются конкретностью и могут быть использованы в амбулаторно-поликлинической практике и в стационарах при определении тактики ведения больных.

Достоверность научных результатов, выводов и рекомендаций.

Положения докторской диссертации Манаповой Э.Р., выносимые на защиту, обоснованы результатами, полученными на основании сравнительных клинико-иммуногенетических наблюдений пациентов с моно-ВГС, ВИЧ и с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями на ранних стадиях развития инфекционного процесса и с учётом различных схем ПВТ, обработанных современными методами биологической статистики на международном уровне.

Достоверность и обоснованность предложенных автором научных положений и выводов не вызывают сомнения.

Результаты диссертации широко апробированы на российском и международном уровнях, опубликованы в 60 научных изданиях, в т.ч. 19-рекомендованных ВАК Министерством образования науки РФ, пособие для врачей «Хронический гепатит С: комбинированная терапия при неэффективности первичного противовирусного лечения» под редакцией Ю.В.Лобзина и соавт., главы монографии «Хронические вирусные гепатиты В, С и D» под редакцией Д.Ш. Еналеевой и соавт. отражают основные результаты исследования.

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс кафедры инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета, а также в работу «Республиканской клинической инфекционной больницы им. проф. А.Ф. Агафонова» МЗ РТ.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «Excel». Представленные выводы обоснованы.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Манаповой Э.Р. нет. Имеющиеся стилистические неточности не влияют на сущность работы и выводы, вытекающие из нее. В целом, работа выполнена на современном уровне и представляет ценность для практического здравоохранения.

Структура и объем диссертации. Работа написана в традиционном стиле на 306 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 102 отечественных и 238 зарубежных

источника. Работа содержит 90 рисунков, 89 таблиц и 5 клинических примеров.

По «Введению» принципиальных замечаний нет; оформлено традиционно с учётом всех компонентов вводной части диссертации, раскрыта актуальность проблемы, изложены цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту, научная новизна, практическая значимость работы, данные по апробации и внедрению результатов исследования в практику.

Глава 1 (обзор литературы) написана с хорошей осведомлённостью по современным исследованиям и сведениям, касаемым изучаемой темы. Посвящена анализу современных представлений о роли иммунного ответа и цитокинов при моноинфекциях ВГС и ВИЧ, ПБТ HCV-инфекции на иммунный ответ; влиянию генотипов интерлейкина-28В при лечении ХГС. Выявлены существенные противоречия, касающиеся динамики отдельных цитокинов у пациентов при естественном течении инфекций и на фоне противовирусной терапии хронического гепатита С. Исходя из выявленных противоречий, автор выделил нерешенные проблемы, связанные с участием цитокинов в формировании противовирусного иммунного ответа при ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциях при естественном течении инфекционного процесса и на фоне противовирусной терапии хронического гепатита С, которые определяют поставленные в работе цели и задачи. По окончании разделов даны короткие заключения с обоснованием основной цели собственного исследования.

Глава 2 изложена в традиционном стиле, принципиальных замечаний нет. Корректно составлен дизайн исследования, распределение пациентов по группам, в которых обследовано 487 пациента: 262 – с ВГС-моноинфекцией, 70 – с ВИЧ-моноинфекцией и 155 пациента с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией. Подробно представлены исходные клинические проявления. Описаны материалы и методы, в том числе современные высокотехнологичные (ПЦР с генотипированием и ИФА), определения однонуклеотидных полиморфизмов в локусах rs12979860 и rs8099917 гена интерлейкина-28В с использованием метода ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом прямой реакции иммунофлюоресценции с моноклональными антителами. Определение концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН γ , ФНО в сыворотке крови проводили методом ИФА. Для оценки морфологического состояния печени пациентам проводилась пункционная биопсия с определением индекса гистологической активности по бальной системе

Knodell, регистрацией фиброза и эластометрия печени на аппарате «Фиброскан».

В главе 3 представлены данные клинико-иммунологических особенностей у пациентов при моно-ВИЧ и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциях в сравнительном аспекте при естественном течении с изучением динамики отдельных цитокинов в зависимости от вирусной нагрузки, функциональной активности клеточных факторов иммунитета и выраженности воспаления. Особый интерес представляет раздел по определению иммунологически и клинических особенностей, межклеточных взаимоотношений отдельных цитокинов на ранних сроках инфицирования ВИЧ (до 1 года) у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией в сравнении с ВИЧ-моноинфекцией при различных путях инфицирования. Выявлено, что у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией на фоне повышенной вирусной нагрузки, более выраженного угнетения Т-клеточного иммунитета (с 6 мес. наблюдения), снижения - ИФН γ , ИЛ-1 β и нарастания уровней ИЛ-10, в клинической картине преобладают гнойно-воспалительные и грибковые поражения с последующей манифестацией вторичных заболеваний (в течение 2 лет) по сравнению с данными при половом пути заражения.

В 4 главе представлена ПБТ ХГС у пациентов с ВГС-моноинфекцией; дана сравнительная оценка влияния стандартных и пегилированных интерферонов на клинические проявления, иммуно-вирусологические и гематологические показатели. Большой раздел посвящен НЯ со сравнительной оценкой тромбоцитопении у пациентов с ВГС-моноинфекцией при применении стандартных и пегилированных интерферонов, коррекции нейтропении и функциональной активности нейтрофилов при проведении.

Подробно детализированы данные исследования по эффективности и безопасности терапии сопровождения ХГС с использованием цитокиновых препаратов интерлейкина-1 β или интерферона- γ в сочетании с альфа-интерфероном и рибавирином у пациентов ВГС-моноинфекцией при отсутствии ответа на предшествующую ПБТ (интерфероном и рибавирином). Автор убедительно подтвердил на достоверном материале эффективность включения цитокиновых препаратов ИЛ-1 β и ИФН γ , что способствовало получению СВО у 44,4% пациентов с моно-ВГС (1b генотип), неблагоприятным генетическим фоном по интерлейкину-28В и не ответивших на предыдущую ПБТ.

Глава 5 посвящена изучению клинико-иммунологической и противовирусной эффективности ПБТ ХГС при сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции в сравнительном аспекте ВГС-моноинфекцией. Показано, что эффективность ПБТ ХГС с использованием Ст-ИФН-альфа (индукционный

метод) и Пег-ИФН-альфа в комбинации с рибавирином при моно-ВГС и сочетанной с ВИЧ-инфекциях сопоставима и сопровождается иммуномодулирующим действием основных иммунокомпетентных факторов, что в совокупности способствует снижению уровня РНК ВИЧ и РНК ВГС. Изучен цитокиновый статус и показатели СОЭ при ПВТ ХГС у моноинфицированных ВГС и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями.

Интересными данными являются результаты по сравнительной характеристике раннего вирусологического ответа и вирусологического ответа на 12 неделе диспансерного наблюдения после комбинированной ПВТ ХГС как предикторов стойкого вирусологического ответа при ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекциях

Глава 6 вызывает особый интерес полученные автором данные в главе по сравнительному анализу распределения генотипов интерлейкина-28В в группах моно-ВГС, моно-ВИЧ и их сочетанном варианте с учетом путей передачи, пола, генотипов и вирусной нагрузки. Диссертантом было выявлено, что пациентов с ВИЧ-моноинфекцией и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией независимо от путей передачи (половой или инъекционный) при сравнении с данными у ВГС-моноинфицированных (с гемоконтактным или инъекционным путем) наблюдается более частое распространение генотипа CC rs12979860, а также сочетание благоприятных генотипов CC rs12979860/TTrs8099917 гена интерлейкина-28В; полиморфизма единичных нуклеотидов CC rs12979860 и TT rs8099917 чаще регистрируются у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией при HCV-3a с выраженным воспалительным процессом (АлАТ>5N) и на фоне высокой вирусной нагрузки РНК ВГС. Новые данные приводит автор по анализу высокой частоты достижения СВО у пациентов с генотипом CC rs12979860 как при назначении Ст-ИФН-α, так и при Пег-ИФН-α у моноинфицированных-ВГС (80% и 67%) и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (78% и 74%).

«Заключение» написано в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Автор грамотно обосновывает свои позиции, исходя из полученных ею результатов.

Положительно оценивая рецензируемую диссертацию, следует выделить вопросы, нуждающиеся в обсуждении:

1. Какие современные диагностические подходы к определению сроков ВИЧ-инфицирования с учётом сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции?
2. Имеет ли значение генотипирование по ИЛ-28В при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции в отличии от моноинфекции-ВГС-1 для прогнозирования эффективности ПВТ ХГС?

3.Насколько Т-клеточная недостаточность у пациентов, не ответивших на традиционный курс ПВТ ХГС сопровождается разнонаправленностью экспрессии провоспалительных цитокинов, которые представлены в Вашей работе?

4.В чём заключается механизм противовирусного эффекта препарата ИЛ-1бетта("Беталейкин " , при гепатите С?

5.В перспективе могут ли ИНТЕРЛЕЙКИНЫ быть применимы в комплексной ПВТ ХГС при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции?

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации .

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Результаты работы необходимо широко внедрять в профессиональную медицину , в работу инфекционных отделений стационаров и кабинетов инфекционных заболеваний поликлиник, занимающихся диагностикой и лечением ВГС- и ВИЧ-инфекции, особенно при сочетанном инфекции ВГС/ВИЧ. В связи с этим важно использовать их при подготовк е врачей-инфекционистов на циклах тематического усовершенствования врачей, в учреждениях последипломного образования. Результаты работы внедрены и используются на кафедре инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» (420140 Казань, пр. Победы 83, телефон (843) 267-80-72, e-mail nfection@kgmu.kcn.ru), в ГАУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (420097 Казань, ул. Вишневского 2а, телефон (843) 236-22-72, e-mail 1 centre_spid@tatar.ru) , в ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. проф. А.Ф. Агафонова» Министерства здравоохранения Республики Татарстан (420110 Казань, пр. Победы 83, телефон (843) 267-80-13, e-mail rkib.mz @tatar.ru).

Заключение

Диссертация Манаповой Эльвиры Равиловны "Клинико-иммуногенетические особенности ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекций, их значение для мониторинга противовирусной терапии хронического гепатита С", выполненная при консультации доктора медицинских наук, профессора В.Х.Фазылова, является самостоятельным, завершенным, квалификационным трудом, имеющим важное значение для инфектологии, в котором решена актуальная проблема

практического здравоохранения-персонализированной эффективной противовирусной терапии хронического гепатита С на основании иммуногенетической концепции изучения его патогенеза при моно- и сочетанном течении с ВИЧ-инфекцией. По актуальности проблемы, методическому уровню и объёму исследования работа Манаповой Э.Р. соответствует требованиям п.9 Постановления Правительства РФ "О порядке присуждения учёных степеней" от 24.09.2013г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а автор заслуживает искомой степени докторов медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры инфекционных заболеваний у детей им профессора М.Г Данилевича ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет" МЗ РФ (протокол № 5 от 20.01.16 г.).

Заведующий кафедрой инфекционных заболеваний у детей им профессора М.Г. Данилевича ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ д.м.н. профессор
Главный специалист по инфекционным заболеваниям у детей Северо-Западного Федерального Округа России и г. Санкт-Петербурга,
заслуженный врач России

В.И.Тимченко Тимченко В.Н.
Тимченко Владимир
Николаевич



Тимченко В.Н.
Подпись *В.Н. Тимченко*
от 20.01.16 г.