

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук,
профессора А.А.Яковлева 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»,
представленной к защите на соискание ученой степени доктора
медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Актуальность темы. Хронический вирусный гепатит С (ХВГ С) является широко распространенным и прогрессирующим заболеванием печени, приводящим к формированию цирроза с большим количеством тяжелых, нередко смертельных осложнений. Занимает, фактически, лидирующее место среди гепатотропных инфекций в развитых странах, где инфицировано 1-2% населения [Alter H.J. et al., 2000; Afdhal N.H. et al., 2004].

В Российской Федерации численность больных ХВГ С достигает не менее 2 млн. человек [Шахгильдян И.В. и соавт., 2003]. Параллельно с наличием HCV-инфекции человеческая популяция инфицируется другим вирусом – иммунодефицита человека. Заболеваемость ВИЧ-инфекцией остается на высоком уровне как в мире, так и в Российской Федерации, а благодаря общим путям передачи, до 80% пациентов имеют коинфекцию HCV/HIV (ВГС/ВИЧ). Нарастающий иммунодефицит, обусловленный ВИЧ, усугубляет формирование цирроза печени и не исключено, что в последующем способствует развитию гепатоцеллюлярной карциномы. При этом происходит взаимное отягощение патологического процесса с неуклонным его прогрессированием за счет снижения ответа на АРВТ и противовирусную терапию ХВГС.

Актуальной и даже приоритетной является разработка лечения больных коинфекцией HCV/HIV. При этом вопрос иммунопатогенеза коинфекции ВГС/ВИЧ-инфекции при естественном течении и на фоне противовирусной терапии хронического гепатита С привлекает внимание

исследователей и заслуживает изучения. Поэтому предпринятая автором попытка определения взаимосвязей иммуноцитокинового и иммуногенетического статуса и разработки прогностических критериев течения коинфекции ХВГС и ВИЧ, а также научного обоснования клинико-патогенетической эффективности противовирусной терапии ВГС при моноформе и в сочетании с ВИЧ-инфекцией является актуальной и востребованной. Эти данные определили цель и задачи настоящего исследования.

Новизна исследования и полученных результатов. Установлено, что при естественном течении инфекционного процесса у пациентов с коинфекцией ВГС/ВИЧ по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными лицами раньше выявляются специфические изменения в иммунном статусе (снижение числа CD3+, CD4+, ИРИ, NK-клеток, повышение числа CD8+лимфоцитов) и в цитокиновом звене (увеличение концентрации ИФН γ и ИЛ-2, снижение ИЛ-1 β), что манифестирует собой более выраженную иммуносупрессию с ранним развитием тяжелых вторичных заболеваний (ВИЧ-энцефалопатия, саркома Капоши, пневмоцистная пневмония и др.)

Впервые автором исследованы особенности клинического течения и межклеточных взаимодействий отдельных цитокинов у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией на ранних сроках инфицирования ВИЧ (до 1 года) и при различных путях инфицирования в сравнительном аспекте с данными при ВИЧ-моноинфекции. Установлено, что на ранних сроках после инфицирования ВИЧ инъекционным путем при коинфекции ВГС/ВИЧ на фоне повышенной вирусной нагрузки, более выраженного по сравнению с аналогичными показателями (при половом пути заражения) угнетения Т-клеточного иммунитета (с 6 мес. наблюдения), снижения – ИФН γ , ИЛ-1 β и нарастания уровней ИЛ-10 наблюдаются гнойно-воспалительные и грибковые поражения, а также вторичные заболевания в течение последующих 2 лет.

У пациентов с ВИЧ-инфекцией и коинфекцией ВГС/ВИЧ по сравнению с моно-ВГС независимо от механизма инфицирования достоверно чаще выявлено распространение генотипа СС rs12979860, а также сочетание благоприятных генотипов СС rs12979860/TTrs8099917 гена ИЛ-28В; ПЕН СС rs12979860. При этом ТТ 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.

Впервые получены данные об эффективности использования противовирусной терапии ХГС Ст-ИФН-альфа (индукционный метод) и Пег-ИФН-альфа в комбинации с рибавирином при моно-ВГС и в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Выявлен совокупный иммуномодулирующий эффект иммунокомпетентной системы, снижение уровня РНК ВИЧ и РНК ВГС. При этом частота достижения СВО 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%). Для пациентов с ХГС (генотип 1b), не ответивших на предшествующее лечение предложена новая схема комбинированной ПВТ с использованием рекомбинантного интерлейкина-1β и интерферона-γ с учетом генотипов по ИЛ-28В.

Автором изучено развитие тромбоцитопении и нейтропении при индукционном методе назначения Ст-ИФН-α и Пег-ИФН-α в комбинации с рибавирином. Для коррекции нейтропении, ассоциированной с применением ИФН-α, диссертант предложила использование отечественного препарата – глюкозаминилмурамилдипептида («ликопид»), который стимулирует лейкопоз, корригирует «раннюю» нейтропению (до 12 недели ПВТ), повышает резервные возможности функционально-метаболической активности гранулоцитов. Полученные результаты позволяют использовать его в лечении ХГС с целью предупреждения развития «поздней»

нейтропении (после 12 недели ПВТ) в связи с истощением фагоцитарного звена иммунной системы организма.

Практическая значимость полученных результатов. На основании комплексной оценки вирусологических и иммунологических факторов расширены показатели иммунологического мониторинга в рамках диспансерного наблюдения за пациентами с коинфекцией ВГС/ВИЧ с включением в обследование цитокинов (ИЛ-1 β , ИФН- γ , ИЛ-10, ИЛ-2) для прогнозирования адекватного иммунного ответа при естественном течении инфекции и проведении противовирусной терапии ХГС.

В практическом смысле данная диссертационная работа демонстрирует необходимость индивидуального подхода к подбору средств и схем для рациональной ПВТ с учётом иммунологического и противовирусного ответа на более ранних сроках заболевания. Автором предложен индукционный метод введения ИФН- α для пациентов с моно- или сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями при следующих показателях: генотип ВГС 2a/3a, молодой возраст (менее 40 лет), срок инфицирования ВГС <10 лет, генотип СС rs12979860 ИЛ-28В, отсутствие выраженного фиброза (<12,5 кПа по METAVIR), избыточной массы тела (ИМТ<25 кг/м²); достижение БВО и РВО, вирусной нагрузкой РНК ВГС менее 400000 МЕ/мл, повышенная активность АлАТ (у мужчин в 3 раза, у женщин в 2 раза), отсутствие алкогольной/ПАВ зависимости; без нейтропении <1500 кл/мкл, тромбоцитопении <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина (для женщин <120 г/л, для мужчин <130 г/л); уровень CD4+ > 350 кл/мкл, низкая (< 10000 коп/мл) и средняя (< 50000 коп/мл) ВН РНК ВИЧ.

Даны конкретные практические рекомендации к назначению ПВТ ХГС на ранних сроках заболевания и предпочтительным схемам и средствам эффективного лечения под контролем иммунологического и вирусологического ответа. Они могут быть использованы в амбулаторно-поликлинической практике и в стационарах при определении тактики ведения больных.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций работы, их достоверность подтверждается большим объемом исследований и репрезентативными выборками пациентов с ВГС-моноинфекцией, с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией. Исследование являлось нерандомизированным, открытым, проводилось в условиях РКИБ им. А.Ф. Агафонова г. Казани и РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ. Проанализированы результаты многолетнего (2000-2014 гг.) клинического и лабораторного наблюдения. Объем исследований (487 протоколов историй болезни) достаточен для получения достоверных результатов. Высокий методический уровень исследований и использование стандартных лабораторных методов исследования, а также иммуногенетических, может свидетельствовать о достоверности полученных результатов и обоснованности сделанных выводов и основных положений диссертации.

Для выполнения поставленной цели проведено клинико-лабораторное обследование 487 пациентов, разделенных на группы с естественным течением ВИЧ-моноинфекцией и ВИЧ/ВГС-инфекцией; группы, получавших ПВТ пациентов с ХВГС и коинфекцией ВГС/ВИЧ. В группах при естественном течении болезни изучалась динамика отдельных цитокинов (ИЛ-1 β , ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-10) в зависимости от вирусной нагрузки (РНК ВИЧ и РНК ВГС), функциональной активности клеточных факторов иммунитета (CD4+, CD8+-лимфоциты) и выраженности воспаления (АлАТ) в сравнении с аналогичными показателями у пациентов с ВИЧ-инфекцией и ВГС/ВИЧ-коинфекцией.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ «Excel». Представленные выводы обоснованы. Автореферат и 60 опубликованных работ (в том числе 19 – в журналах, рекомендованных ВАК), 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. Полученные автором данные дополняют представления о патогенезе и клинических проявлениях микст-формы ХВГ С в сочетании с ВИЧ-инфекцией.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Имеющиеся стилистические и грамматические 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.

Основные научные положения и выводы, а также разработанные рекомендации по определению отдельных цитокинов в мониторинге ПВТ хронического гепатита С у пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией и схема индукционного метода назначения Ст-ИФН- α в комбинации с рибавирином используются в практике работы врачей Республиканской клинической инфекционной больницы (РКИБ) и Республиканского Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями МЗ РТ (РЦПБ СПИД) и учебном процессе на кафедре инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета.

Введение оформлено традиционно, 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) написан корректно грамотным научным языком с освещением современных исследований по изучаемой теме. Обзор раскрывает анализ современных представлений о роли иммунного ответа и цитокинового статуса при ВГС и ВИЧ-инфекции, а также влиянию ПВТ на иммунный ответ при HCV-инфекции. Выявлены существенные противоречия, касающиеся динамики отдельных цитокинов у пациентов при естественном течении хронического гепатита С и на фоне ПВТ. Исходя из выявленных противоречий, автор выделяет нерешенные проблемы, связанные с участием цитокинов в формировании противовирусного иммунного ответа при ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции при естественном течении инфекционного процесса и на фоне противовирусной терапии хронического гепатита С, которые определяют поставленные в работе цели и задачи.

Глава 2 отражает общую характеристику обследованных 487 больных, из которых 155 пациента с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией, 70 – с ВИЧ-моноинфекцией и 262 – с ВГС-моноинфекцией. Исследование естественного течения ХВГ и на фоне ПВТ проводилось на основе анализа стандартных клинικο-лабораторных данных, а также современных высокотехнологичных методов (ПЦР и ИФА). Для определения однонуклеотидных полиморфизмов в локусах rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В применялся набор реагентов «АмплиСенс® Геноскрин-IL-28В FL». Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом прямой реакции иммунофлюоресценции с моноклональными антителами. Определение концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН γ в сыворотке крови проводили методом ИФА. Для оценки морфологического состояния печени пациентам проводилась пункционная биопсия и эластометрия печени на аппарате «Фиброскан».

Глава 3 посвящена анализу собственных клинических наблюдений. Изучена динамика отдельных цитокинов в зависимости от вирусной нагрузки, функциональной активности клеточных факторов иммунитета и выраженности воспаления в группах естественного течения ВИЧ-моно и

коинфекции ВГС/ВИЧ. Определены иммунологические и клинические особенности, межклеточные взаимоотношения отдельных цитокинов на ранних сроках инфицирования ВИЧ (до 1 года) у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией в сравнении с ВИЧ-моноинфекцией. Выявлено, что естественное течение сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции в сравнении с ВИЧ-моноинфекцией характеризуется более выраженным угнетением Т-клеточного иммунитета (с 6 мес. наблюдения), снижением - ИФН γ , ИЛ-1 β и нарастанием уровней ИЛ-10, что характеризовалось более ранним развитием тяжелых СПИД-индикаторных заболеваний (ВИЧ-энцефалопатия, саркома Капоши, пневмоцистная пневмония).

В 4 главе автором проведена оценка вирусологического ответа, клинико-ферментативной и морфологической эффективности противовирусной терапии ХГС у пациентов ВГС-моноинфекцией. Представлены методы ПВТ ХГС, где проведена сравнительная оценка Ст-ИФН и ПЕГ-ИФН. Большой раздел посвящен нежелательным явлениям (НЯ) с оценкой состояния клинико-иммунологических и вирусологических показателей, с коррекцией нейтропении и функциональной активности нейтрофилов. Автор убедительно подтвердил на достоверном материале эффективность и безопасность терапии сопровождения с использованием препаратов интерлейкина -1 β или ИФН- γ в сочетании альфа - ИФН и РИБ у пациентов с неудачной предшествующей терапией.

Глава 5 посвящена изучению клинико-иммунологической и противовирусной эффективности ПВТ ХГС. Показано, что эффективность ПВТ 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. При достижении стойкого противовирусного ответа у пациентов с коинфекцией ВГС/ВИЧ выявлено иммунокоррегирующее действие ПВТ ХГС в соотношении

отдельных факторов Т-клеточного иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+), ИРИ, NK-клеток, цитокинового статуса (повышение уровня ИФН γ и ИЛ-10, снижение ИЛ-1 β) и коррелирующего с ними интегрального показателя воспаления СОЭ.

В Главе 6 автором получены новые данные по сравнительному анализу распределения генотипов ИЛ-28В в группах моно-ВГС, моно-ВИЧ и их микст-форме. Новые данные приводит диссертант по анализу взаимосвязи генотипов по ИЛ-28В с другими факторами и оценку значения в прогнозировании вирусологических ответов при ПВТ ХГС; частота достижения СВО 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%).

«Заключение» написано в соответствии с общепринятыми рекомендациями, представляет собой резюме разделов глав собственных исследований, а также сравнительный анализ полученных результатов с данными других исследователей. Выводы работы вытекают из данных, полученных автором.

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

1. На стр.250-251: «Настоящая работа выполнена с целью определения диагностических взаимосвязей иммуноцитокинового и иммуногенетического статусов и обоснования клинико-патогенетической эффективности и прогноза анти-ВГС терапии при монотечении ВГС и в сочетании с ВИЧ-инфекцией». Что вкладывается в понятие «диагностические взаимосвязи»?

2. Стр. 258. «Данные по анализу выраженности иммунной дисфункции с оценкой ВН РНК ВГС до начала лечения у каждого конкретного пациента поможет в выборе оптимальных схем ПВТ и, возможно, облегчит обоснование назначения патогенетически

ориентированных иммунокорригирующих препаратов». Какие именно данные помогут в выборе оптимальных схем ПВТ?

3. Какие цитокины, по Вашему мнению, играют существенную роль в формировании противовирусного иммунного ответа при ХВГС?

4. Грамматические ошибки на стр. 257: «Одними из основных факторов назначения "нестандартной" схемы ИФН-α являлись сохранение оптимального баланса между противовирусной активностью и длительностью периода полувыведения...»; «Метод индукционной терапии, при которой применялись высокие дозы ИФН-альфа – 5-6-10 млн МЕ ежедневно в первые 2-4 недели лечения или на протяжении всего курса лечения, составляющего 12 месяцев использованы и ранее.»

5. Сколько же в итоге было групп наблюдаемых больных?

6. Представляется, что сокращение слова «нейтропения» как «НП» является слишком вольным (стр.261).

7. Стр. 264 - много опечаток («цациентов», «достихших» и др).

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Результаты работы могут быть внедрены в профессиональную медицину, в работу инфекционных отделений в стационарах и кабинетах инфекционных заболеваний поликлиник, занимающихся диагностикой и лечением ВГС- и ВИЧ-инфекции, а также при подготовке 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 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).

Проведенные исследования расширяют научную обоснованность представления о причинно-факторной взаимосвязи недостаточности иммунного ответа на вирусологическую эффективность ПВТ у пациентов с ХГС, требующих в дальнейшем новых методов иммунокорригирующей терапии.

Заключение

Диссертационная работа Манаповой Эльвиры Равиловны на тему «Клинико-иммуногенетические особенности ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекций, их значение для мониторинга противовирусной терапии хронического гепатита С», выполненная при консультировании доктора медицинских наук профессора В.Х. Фазылова является завершенным квалификационным научно-практическим трудом, решающим одну из важных проблем инфектологии по поиску эффективных средств и методов терапии ВГС инфекции у моноинфицированных и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией с клинико-иммуногенетическим обоснованием и определением факторов, влияющих на успех лечения, имеющую важное значение для инфекционных болезней.

По актуальности проблемы, методическому уровню, объёму выполненных исследований, работа Манаповой Э.Р. соответствует требованиям п. 9 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а автор Манапова Э.Р. заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Официальный оппонент:

Яковлев Алексей Авенирович – доктор медицинских наук, профессор,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский
государственный университет» Правительства РФ,

заведующий кафедрой инфекционных болезней, эпидемиологии и
дерматовенерологии

Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7-9.

Тел: +7 (812) 328-20-00 Эл.почта: spbu@spbu.ru, сайт: spbu.ru

«01» февраля 2016 г.

Личную подпись *Яковлева Алексея Авенировича*

ЗАВЕРЯЮ

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ**



Краснова Е.П.
01.02.2016