

«Утверждаю»

Проректор по науке и инновационной
деятельности Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Северо-Западный
государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Силин

2016



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научной и практической ценности диссертационной работы

Бикбаевой Татьяны Викторовны на тему: «Характеристика иммунного ответа у больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом и ее значение в прогнозировании течения болезни» представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Актуальность темы диссертации и ее связь с планами развития медицинской науки и здравоохранения. В диссертационной работе Бикбаевой Т.В. актуальность темы исследования не вызывает сомнений. Эндогенные инфекции все чаще встречаются в практике врачей разных специальностей. Диагностика и лечение герпесвирусных инфекций является одной из актуальных проблем современной медицины. Герпесвирусы широко распространены, они способны поражать практически все органы и системы организма человека, вызывая латентную, острую и хроническую формы инфекции. При иммунодефицитных состояниях возможна реактивация ВЭБ, возникновение В-клеточных лимфом, так как Т-клетки перестают контролировать пролиферацию В-лимфоцитов. С иммунодефицитом и реактивацией вируса Эпштейна-Барр связывают также

развитие лимфомы Беркитта, лимфогранулематоза, рака желудка и назофарингеальной карциномы.

Проблемы иммунопатогенеза ВЭБ-инфекции в настоящее время еще недостаточно изучены. Однако, по мнению большинства исследователей, именно Т-клеточному иммунному ответу принадлежит основная роль в развитии и исходе заболевания. Иммунный ответ макроорганизма на ВЭБ включает функционирование гуморального и клеточного иммунитета. Активация Т-лимфоцитов, продуцирующих ИНФ- α , ИНФ- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-6 ведет к стимуляции функций Т-лимфоцитов, макрофагов и развитию иммунного ответа по клеточному типу, который играет решающую роль в противовирусной защите макроорганизма.

Изучение патогенеза болезни и механизмов взаимодействия вируса и макроорганизма будет способствовать развитию новых подходов к диагностике и лечению герпетической инфекции.

Целью исследования была оценка содержания медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом и прогнозирование течения болезни. Были поставлены задачи: изучить состав больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом в зависимости от пола, клинического течения, сопутствующих заболеваний, биохимических показателей, спектра антител, репликативной активности вируса; оценить содержание медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом в зависимости от пола, клинико-биохимических показателей, репликативной активности, антительного ответа; провести анализ характеристики больного, клинико-биохимических особенностей, репликативной активности ВЭБ, показателей медиаторов иммунного ответа и оценить их влияние на формирование циклического и затяжного течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза; изучить особенности клинико-лабораторных показателей, значений медиаторов иммунного ответа у больных с циклическим и затяжным течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза; оценить динамику клинико-биохимических показателей,

репликативной активности ВЭБ, антительного ответа, содержания медиаторов иммунного ответа при проведении иммунокорригирующей терапии.

В соответствии с поставленными задачами исследования проведены у 136 больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом (112 - среднетяжелым и 24 - тяжелым течением).

Диагноз ВЭБ-инфекционного мононуклеоза соответствовал общепринятым критериям. У всех больных учитывались особенности клинического течения болезни, результаты общеклинических (общий анализ крови) и биохимических исследований (билирубин, аланинаминотрансфераза). У пациентов с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом активность репликации ВЭБ подтверждалась обнаружением ДНК-ВЭБ в крови. Для определения ДНК ВЭБ использовался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Ампли Сенс VZV-FL». У больных с острой первичной инфекцией методом иммуноферментного анализа регистрировались VCA IgM, VCA IgG и EA IgG. Индикация уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α , ИНФ- γ проводилось с использованием твердофазного иммуноферментного метода.

Было установлено два варианта течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза: циклическое (1-я группа) и затяжное течение (2-я группа). Циклическое течение характеризовалось нормализацией клинко-лабораторных показателей и элиминацией вируса на 3-4 неделе болезни. Затяжной характер болезни сопровождался волнообразным течением, когда в течение 6 месяцев после перенесенной первичной инфекции определялись рецидивы болезни: клинко-лабораторные обострения и положительные результаты индикации ДНК-ВЭБ в крови.

Содержание медиаторов иммунного ответа было изучено у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом, у которых было отмечено формирование циклического и затяжного течения болезни.

Одним из важных направлений работы была оценка клинико-лабораторных показателей и изучение содержания медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом с риском формирования затяжного течения, которые получали амиксин.

Изучение содержания интерлейкинов проводилось до начала лечения и в конце 1,2,3,4 недели на фоне проводимой терапии.

Научная новизна основных выводов и результатов диссертационной работы состоит в том, что впервые с позиций доказательной медицины осуществлен комплексный анализ содержания медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекцией, проведено прогнозирование особенностей течения, исходов болезни и оценка эффективности иммунокорригирующей терапии.

Удалось установить, что у больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом отмечено повышение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α , ИНФ- γ по сравнению с контрольными значениями, что можно расценить как адекватную реакцию организма на инфекцию. Факторами, способствующими повышению содержания медиаторов иммунного ответа, являются клинически активные формы болезни (лихорадка более 38°, экзантема, тозиллярный синдром), лейкоцитоз, гипертрансаминаземия, положительные результаты индикации a/VCA IgM при первичном обследовании.

Показано, что разные исходы ВЭБ-инфекционного мононуклеоза в значительной степени объясняются особенностями содержания и динамики медиаторов иммунного ответа.

Установлено, что у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом с циклическим течением по данным первичного обследования отмечено увеличение содержания ИЛ-1 β , ИНФ- γ в 2 и более раз по сравнению с контрольными показателями. У пациентов с затяжным течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза определялось незначительное нарастание показателей ИЛ-1 β , ИНФ- γ при первичном обследовании (менее 2-х норм) по сравнению со средними контрольными значениями.

Доказано, что у больных с циклическим течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза отмечалось снижение содержания ИЛ-1 β , ИНФ- γ к 4-й неделе болезни, что сопровождалось нормализацией клинико-лабораторных показателей и исчезновением ДНК-ВЭБ. У пациентов с затяжным течением инфекции определялись монотонно низкие показатели медиаторов иммунного ответа в течение всего периода наблюдения.

Показано, что при лечении амиксином у большинства пациентов с затяжным течением содержание ИНФ- α повышалось в 1,5-2 раза к 3-4 неделе лечения по сравнению с соответствующими значениями до начала терапии, тогда как в контрольной группе показатели ИНФ- α сохранялись на прежнем уровне. Это подтверждает эффективность лечения амиксином, активацию Т-эффекторных механизмов, что способствует подавлению репликативной активности, элиминации вируса, нормализации клинико-лабораторных показателей.

Практическая значимость полученных результатов.

На основании комплексной оценки клинико-демографических, вирусологических и иммунологических факторов определены критерии раннего прогнозирования формирования затяжного течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза и оценка эффективности иммунокорригирующей терапии.

Показано, что благоприятным прогностическим критерием циклического течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза являлось увеличение уровня ИЛ-1 β , ИНФ- γ в 2 раза и более по сравнению с контрольными показателями. Было доказано, что у этих пациентов к 3-4 неделе болезни определялись отрицательные результаты индикации ДНК-ВЭБ в крови, что характеризовало завершение активной репликации вируса.

У пациентов с затяжным течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза выявлялось незначительное увеличение уровня ИЛ-1 β , ИНФ- γ при первичном обследовании (менее 2-х норм) по сравнению со средними

контрольными значениями. Это сопровождалось положительными результатами индикации ДНК-ВЭБ на 3-4 неделе болезни, что подтверждало сохранение активной репликации вируса у этих пациентов.

Доказано, что у больных с затяжным течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза при лечении амиксином исчезновению ДНК соответствовало повышение ИНФ- α в 1,5-2 раза к 4-й неделе терапии.

Достоверность научных результатов, выводов и рекомендаций подтверждается большим объемом исследований на ретроспективном и проспективном этапах наблюдения за больными с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом. Проанализированы результаты 6-летнего (2009-2015 гг.) клинического и лабораторного наблюдения. Объем исследований (клинический материал представлен 215 протоколами историй болезни) достаточен для получения достоверных результатов. Высокий методический уровень исследований и использование стандартных лабораторных методов исследования (в том числе иммунологических) позволяет автору говорить о достоверности полученных результатов и обоснованности сделанных выводов и основных положений диссертации.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов программ «Statistica» и «Биостат». Представленные выводы обоснованы. Автореферат и 4 опубликованные работы в журналах, рекомендованных ВАК, отражают основные результаты исследования.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Бикбаевой Т.В. 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, изложена на 134 страницах компьютерного текста, состоит из 4 глав (обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав

по результатам собственных исследований), общего заключения с основными выводами и практическими рекомендациями, указателя литературы, содержащего 262 источника, в том числе 125 отечественных и 137 зарубежных авторов. Диссертация документирована 12 выписками из историй болезни, иллюстрирована 17 таблицами и 31 рисунком. Текст читается легко.

По теме диссертации опубликовано 4 работы, включенные в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Основные научные положения и выводы, а также разработанные критерии прогноза течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза используются в практической работе инфекционных стационаров (ГБУЗ НО ИКБ №2, ГБУЗ НО ИКБ №9, г. Нижний Новгород), кабинете инфекционных заболеваний поликлиники №30 (городская клиническая больница №30), в научной работе кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», в учебном процессе на кафедре инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия».

Во введении 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) посвящена систематическому обобщению накопленных знаний о факторах, определяющих характер естественного течения герпетической инфекции, изучению иммунного ответа у больных с герпетической инфекцией, особенности взаимодействия вируса и макроорганизма. Рассмотрены основные механизмы иммунорегуляции у больных герпетической инфекцией, дана основная характеристика медиаторов иммунного ответа. Представлены основные группы противовирусных и иммунокорригирующих препаратов, которые

используются в клинике инфекционных болезней для лечения пациентов с герпетической инфекцией. Автор акцентирует внимание на нерешенных вопросах, которые связаны с прогнозированием течения и эффективности лечения больных с герпетической инфекцией.

Глава 2 отражает общую характеристику обследованных больных: В соответствии с поставленными задачами исследования проведены у 136 больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом (112 - среднетяжелым и 24 - тяжелым течением). Группа с циклическим течением составила – 111 больных, с затяжным течением – 25 пациентов.

Диагноз ВЭБ-инфекционного мононуклеоза соответствовал общепринятым критериям. У всех больных учитывались особенности клинического течения болезни, результаты общеклинических (общий анализ крови) и биохимических исследований (билирубин, аланинаминотрансфераза). У пациентов с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом активность репликации ВЭБ подтверждалась обнаружением ДНК-ВЭБ в крови. Для определения ДНК ВЭБ использовался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Ампли Сенс VZV-FL». У больных с острой первичной инфекцией методом иммуноферментного анализа регистрировались VCA IgM, VCA IgG и EA IgG.

Индикация уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α . ИНФ- γ проводилось с использованием твердофазного иммуноферментного метода (производитель ООО «Протеиновый контур» г.Санкт-Петербург).

В данной главе также отражена характеристика больных в зависимости от пола, возраста, тяжести течения. Изучены сопутствующие заболевания. Определялись общеклинические и биохимические показатели (лейкоциты, АЛАТ). Определялись антитела к ВЭБ (VCA IgM, VCA IgG и EA IgG) и ДНК-ВЭБ (метод полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Ампли Сенс VZV-FL»).

В 3 главе уровень медиаторов иммунного ответа определялся у больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом в зависимости от пола, клинико-лабораторных показателей, спектра антител, ДНК-ВЭБ. Содержание медиаторов иммунного ответа изучалось у больных с сопутствующими заболеваниями. Показатели провоспалительных медиаторов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α , ИНФ- γ) определялись у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом с высокой лихорадкой (более 38°C), с синдромом тонзиллита, экзантемой, гепатоспленомегалией. Одним из направлений исследования было определение содержания провоспалительных цитокинов у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом с различными показателями лейкоцитоза, атипичных мононуклеаров, трансаминаз, билирубина. Следующим важным направлением работы было определение показателей провоспалительных медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом в зависимости от спектра маркеров ВЭБ (VCA IgM, VCA IgG, EA IgG, EBNA IgM и ДНК-ВЭБ).

В данной главе проведена оценка клинико-anamnestических данных, результатов биохимических исследований, маркеров ВЭБ-инфекции, медиаторов иммунного ответа при первичном обследовании и в процессе динамического наблюдения у больных с разными особенностями течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза. Было установлено два варианта течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза: циклическое (1-я группа) и затяжное (2-я группа). Циклическое течение характеризовалось нормализацией клинико-лабораторных показателей и элиминацией вируса на 3-4 неделе болезни. Затяжное течение сопровождалось волнообразным течением болезни, когда в течение 6 месяцев после перенесенной первичной инфекции определялись рецидивы болезни: клинико-лабораторные обострения и положительные результаты индикации ДНК-ВЭБ в крови.

Одним из важных направлений работы было изучение содержания медиаторов иммунного ответа у больных с ВЭБ-инфекционным мононуклеозом в зависимости от исходов болезни.

Таким образом, автором было установлено, что предикторами циклического течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза являются следующие симптомы: лихорадка менее 14 дней, экзантема, отсутствие сопутствующих заболеваний, наличие лейкоцитоза и атипичных мононуклеаров, отсутствие ДНК-ВЭБ на 3-4 неделе болезни и увеличение содержания ИЛ-1 β , ИНФ- γ в 2 и более раз по сравнению с нормой при первичном обследовании.

Ко-факторами формирования прогрессивного течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза являются наличие длительной лихорадки (более 14 дней), отсутствие лейкоцитоза и атипичных мононуклеаров, сопутствующие заболевания, положительная индикация ДНК-ВЭБ на 3-4 неделе болезни, повышение содержания ИЛ-1 β и ИНФ- γ при первичном обследовании менее 2-х норм по сравнению со средними контрольными значениями.

В 4-й главе автор проводит изучение содержания медиаторов иммунного ответа у больных с затяжным течением ВЭБ-инфекционного мононуклеоза при лечении амиксином.

Изучение содержания медиаторов иммунного ответа проводилась до начала лечения и в конце 1,2,3,4 недели на фоне проводимой терапии.

Глава «Обсуждение» написана в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Автор грамотно обосновывает свои позиции, исходя из полученных им результатов.

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

1. Какие критерии прогнозирования циклического течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза Вы можете предложить?
2. Почему у больных с клинически активными формами болезни определяются более высокие показатели медиаторов иммунного ответа?

Высказанные замечания в целом не снижают значимости работы. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Результаты работы могут быть широко внедрены в работу инфекционных отделений стационаров и кабинетов инфекционных заболеваний поликлиник, занимающихся диагностикой и лечением ВИЧ-ассоциированных инфекций, 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 «Нижегородская государственная медицинская академия» (603022 Нижний Новгород, ул. Барминская 8а, телефон (831)-433-44-46, e-mail kafedra-fabraars@yandex.ru), в приемном покое ГБУЗ НО «Инфекционной клинической больницы №2» (603022 Нижний Новгород, ул. Барминская 8а, телефон (831)-433-00-33, сайт <http://www.kib2.r52.ru/about.phtml>), в ГБУЗ НО «Городская больница №9» (603010 Нижний Новгород, ул. Украинская 1, телефон 245-23-61, сайт <http://www.hospital9.ru>), в кабинете инфекционный заболеваний поликлинического отделения ГБУЗ НО «Городская больница №30» (605157 Нижний Новгород, ул. Шалапина 1, телефон 245-23-61, сайт <http://www.gkb30.ru>).

Заключение

Диссертационная работа Бикбаевой Татьяны Викторовны на тему: «Характеристика иммунного ответа у больных ВЭБ-инфекционным мононуклеозом и ее значение в прогнозировании течения болезни» представленная на соискание степени кандидата медицинских наук, является законченной научной квалификационной работой, в которой решена актуальная задача прогнозирования течения ВЭБ-инфекционного мононуклеоза и эффективности иммунокорригирующей терапии, и имеет

существенное социально-экономическое значение для практического здравоохранения.

Диссертация Бикбаевой Т.В. выполнена в Нижегородской государственной медицинской академии под научным руководством доктора медицинских наук, доцента Собчак Д.М. По актуальности, объему исследований, методическому обеспечению и полученным результатам работа полностью соответствует требованиям п. 9-14 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» в редакции, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 г. «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Протокол № 1 от 06 сентября 2016 года.

Заведующий кафедрой инфекционных болезней
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Минздрава России, академик РАН, профессор,
доктор медицинских наук



Ю.В. Лобзин

Лобзин Юрий Владимирович, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, кафедра инфекционных болезней, 191167, г. Санкт-Петербург, ул. Миргородская, д.3, Клиническая инфекционная больница имени С.П. Боткина, корпус 3, Yuriy.Lobzin@szgmu.ru, 8(812) 717-60-51.

Подпись	<u>Ю.В. Лобзин</u>
Заверяю	<u>А.В. Соколова</u>
« 06 »	09 2016г.

