

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук,
профессора Алексея Авенировича Яковлева о диссертационной работе
Ковалевской Ольги Ивановны
«КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
ОСТРОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ВЗРОСЛЫХ
НЕИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ»,
представленной к защите на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.09. инфекционные болезни

Актуальность темы исследования. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) отличается значительной распространенностью в мире среди лиц любого возраста, частота инфицирования вирусом варьирует от 45 до 98% по данным ВОЗ. Установлено, что после 35 лет у каждого третьего жителя планеты обнаруживают антитела к ЦМВ. При этом, будучи инфицированным, человек остается вирусоносителем в течение всей жизни, и значимость присутствия цитомегаловируса в онтогенезе человека продолжает активно изучаться в настоящее время. Доказано, что по разрушительному влиянию на иммунциты ЦМВ уступает только вирусу иммунодефицита. Развиваясь, как правило, в условиях первичного или вторичного иммунодефицита, ЦМВ является индикатором иммунологической недостаточности (Alonso Arias R., 2013). Будучи оппортунистом по своей сути, ЦМВ часто обнаруживают при различных иммунодефицитных состояниях: в посттрансплантационном периоде [Емельянова С.С., Виноградская Г.Р., 2006], при аутоиммунных заболеваниях на фоне иммуносупрессивной терапии, при ВИЧ-инфекции, при беременности. Обсуждается возможное участие ЦМВ в этиологии либо патогенезе язвенного колита [Барышников Е.Н. и др, 2010], атеросклероза, пролонгированной нейтропении. Хорошо известно влияние ЦМВИ на развитие плода и на развитие новорожденных, а также её роль как ВИЧ-маркера и как ВИЧ-ассоциированной болезни. При этом единой общепринятой классификации ЦМВ-инфекции на сегодняшний день не существует, хотя известны и описаны органые поражения: ЦМВ-гепатит,

ЦМВ-панкреатит, ЦМВ-интерстициальная пневмония, миокардит. Выполненная автором работа по изучению клинической картины, алгоритму диагностики ЦМВИ у взрослых иммунокомпетентных лиц является актуальной и представляет научно-практический интерес.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Автором представлена характеристика клинического течения ЦМВИ у госпитализированных иммунокомпетентных пациентов Краснодарского края с острой формой ЦМВИ. Установлено, что первичной острой формой чаще болеют мужчины молодого возраста с проявлениями в виде лихорадки, гепатоспленомегалии, гиперферментемии (АЛТ, АСТ, ЛДГ, ГГТП) и относительным лимфоцитозом. Автор доказала, что по сравнению с реактивацией хронического патологического процесса, старт ЦМВ-инфекции имеет большую остроту и клиническую выраженность. При этом иммунные нарушения при первичной ЦМВ-инфекции в виде угнетения нейтрофильного звена иммунитета у трети обследованных пациентов носят транзиторный характер.

Получены данные о том, что монотерапия ганцикловиром, обладающим прямым противовирусным действием, более эффективна, так как зарегистрирована достоверно более ранняя элиминация ДНК цитомегаловируса из крови по сравнению с комбинированной терапией ганцикловиром и индукторами интерферона.

Практическая значимость исследования. При наличии лихорадки неясной этиологии, гепатоспленомегалии, лимфоцитозе, повышенном уровне аминотрансфераз показано обследование иммунокомпетентных пациентов на ЦМВ-инфекцию. Выявление в сыворотке крови больных антител к цитомегаловирусу CMV-IgM и CMV-IgG с уровнем авидности менее 50%, а также определение ДНК вируса в крови и моче является подтверждающим критерием верификации диагноза острой ЦМВ-инфекции. Реактивацию

цитомегаловирусной инфекции диагностируют, основываясь на обнаружении CMV-IgG с авидностью более 50% при низких показателях CMV-IgM.

Наиболее эффективным лечением ЦМВИ является монотерапия ганцикловиром по сравнению с комбинацией ганцикловира и циклоферона. При этом быстрая элиминация ДНК ЦМВИ из крови при сохраняющихся признаках иммуносупрессии является показанием для исследования иммунного статуса и наличия ДНК вируса цитомегалии у реконвалесцентов перед выпиской из стационара для исключения затяжного течения заболевания. Наличие выраженных изменений иммунного статуса является основанием для диспансерного наблюдения реконвалесцентов у врача – иммунолога.

Степень обоснованности и достоверности каждого научного положения и выводов диссертационной работы. Работа охватывает одиннадцатилетний период наблюдения с 2004 – 2015 гг. на базе ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница» г. Краснодара. Проведено комплексное обследование 127 больных с манифестными формами ЦМВИ. Полученный материал позволил проанализировать клиническое течение ЦМВИ у взрослых лиц с острой и реактивированной формой ЦМВИ, на основании чего автор разработал некоторые критериальные различия этих форм заболевания. Так, при первичной острой форме ЦМВИ выявлен достоверно более высокий уровень лимфоцитоза, гипербилирубинемии, гиперферментемии (уровней АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ГГТП, ЩФ) и СРБ.

Получен опыт применения противовирусных препаратов: монотерапия ганцикловиром по сравнению с комбинацией ганцикловира и индуктором интерферона приводила к достоверно более ранней элиминации ДНК возбудителя из крови, что следует считать более эффективным лечением даже при прочих равных клинических показателях, и поэтому может быть рекомендована в качестве предпочтительной этиотропной терапии.

Объем исследований достаточен для получения достоверных результатов. Автор использовала стандартные тесты (ИФА) и полимеразную

цепную реакцию с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс®CMV-FL», в результатах которой ДНК ЦМВ была обнаружена у большинства обследованных в крови, реже в моче и слюне. При выявлении CMV-IgM с отрицательными CMV-IgG, либо на основании выявления CMV-IgM и CMV-IgG с авидностью менее 50% диагностировали первичную острую ЦМВИ (103 человека). Контрольную группу составили 24 больных с реактивацией ЦМВ-инфекции, подтвержденной обнаружением CMV-IgG с авидностью более 50% и при низких показателях CMV-IgM. Кроме того, группе пациентов с первичной ЦМВ-инфекцией проводили исследование иммунного статуса.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием статистических программ Microsoft Excel, методов вариационной статистики и непараметрических коэффициентов. Достаточный объем наблюдений и проведенных исследований с применением современных методик, адекватных поставленным задачам, статистическая обработка полученных результатов обосновывают достоверность научных положений, выдвигаемых автором, выводов и практических рекомендаций. Автореферат и 12 опубликованных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и учебное пособие отражают основные результаты исследования. Работа выполнена в ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница» г. Краснодара при научном консультировании доктора медицинских наук профессора Жуковой Л.И. Основные положения диссертационной работы доложены на VII научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (Краснодар, 17-18 мая, 2012 г.), опубликованы в материалах научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (Краснодар, 2013, 2014, 2015, 2016 г.г.), опубликованы в материалах IV, V, VI, VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 2012, 2013, 2014, 2015 г.г.).

Структура и содержание диссертации являются традиционными. Диссертация оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.011-2011 и изложена на 158 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, методической главы с описанием материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 452 источника, в том числе 76 отечественных и 376 зарубежных авторов. Текст иллюстрирован 22 таблицами и 2 рисунками. Основные научные положения и выводы используются в работе клиники инфекционного отделения в ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница» г. Краснодар.

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 анализу эпидемиологической ситуации ЦМВИ, приведены современные данные о высокой пораженности населения ЦМВИ: тяжелых внутриутробных поражений плода, частой патологии органа зрения, частых рецидивах заболевания, а также данные о прогрессирующем течении ЦМВИ у больных ВИЧ-инфекцией. Рассмотрен механизм действия вируса: развитие цитопатогенного эффекта в инфицированной ЦМВ культуре клеток ассоциируется с высоким уровнем нагрузки вирусной ДНК и активной транскрипцией м-РНК главного капсидного белка. Показаны особенности ЦМВ: крупный ДНК-геном, невысокая цитопатогенность в культуре клеток, медленная репликация, низкая вирулентность, резкое угнетение иммунитета со снижением Т4/Т8-лимфоцитов, активация В-клеток, онкогенный потенциал. Активность вирусной репликации, риск манифестации ЦМВИ, тяжесть ее течения во многом определяются глубиной иммуносупрессии, прежде всего уровнем снижения количества CD4-лимфоцитов в крови. Приведены литературные данные о способности ЦМВ у иммуносохранных пациентов инициировать

хронические воспалительные заболевания кишечника, системные поражения в виде склеродермии. Дана развернутая клиническая симптоматика, методы диагностики, проанализированы также современные представления о терапевтических подходах к лечению и профилактики ЦМВИ.

Глава 2 отражает общую характеристику обследованных 127 больных с манифестными формами ЦМВИ. Описаны методы стандартного и специфического обследования пациентов. Больные с фоновыми иммунодефицитными заболеваниями (ВИЧ-инфекцией, онкологическими заболеваниями, посттрансплантационными состояниями, получавшими иммунодепрессанты), а также беременные женщины были исключены из обследования. Использовались современные высокотехнологичные методы индикации ЦМВ (ИФА) с использованием сертифицированных наборов реагентов ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», а также кровь, мочу и слюну исследовали для обнаружения ДНК ЦМВ методом ПЦР. Кроме того, пациентам выполняли стандартные клинические и биохимические исследования. Автором изучался иммунный статус по данным содержания лимфоцитов и их популяций в иммунофлюоресцентном тесте «Статус» с помощью сертифицированного набора моноклональных и поликлональных антител. Гуморальное звено иммунитета оценивалось по содержанию в крови основных классов иммуноглобулинов (G, M, A) по методу G. Manchini (1965) Для выявления ЦИК в сыворотке крови использовали метод иммунопреципитации в ПЭГ (Ю.А. Гриневича). Проводилась также оценка фагоцитоза (метод Б.В. Пинегина, А.А. Ярилина), оценка функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте (метод Л.В. Ковальчук и А.Н. Чередыева). Учитывался также спонтанный и стимулированный фагоцитоз с последующим расчетом коэффициента стимуляции.

Глава 3 посвящена анализу собственных клинических наблюдений. Дана клинико-лабораторная характеристика первичной острой ЦМВИ и реактивированной хронической ЦМВИ. Первичная форма протекала преимущественно в генерализованной форме (96,1%), чаще у мужчин, а

реактивация – в генерализованной (54,2%) и в форме инфекционного мононуклеоза (45,8%) – чаще у женщин. Первичная ЦМВИ характеризовалась более острым течением с длительной фебрильной лихорадкой ($22,9 \pm 0,9$ дней), гепатоспленомегалией. При манифестной реактивации ЦМВИ характерны субфебрилитет, гепатоспленомегалия, активация ферментов АлАТ и ЛДГ.

Изменения в иммунном статусе больных первичной острой ЦМВ-инфекцией в виде угнетения CD4+(57,9%), увеличения Т-цитотоксических лимфоцитов CD3+(89,5%) и CD8+(88,9%), снижения CD19+(77,8%) свидетельствовали о преходящем вторичном иммунодефиците с угнетением нейтрофильного звена иммунитета. Кроме того, получены данные, показывающие сдерживание поликлональной активации В-лимфоцитарного звена и отсутствие аутоиммунной перестройки у трети обследованных пациентов. Уменьшение соотношения CD4+/CD8+ в среднем до $0,7 \pm 0,1$ свидетельствовали о выраженном повреждении противовирусного звена иммунитета, что согласуется с данными литературы.

Динамика иммуноглобулинов класса М (от $978,8 \pm 420,3$ мг/дл до $1164,7 \pm 998,2$ мг/дл) при отсутствии существенных изменений иммуноглобулинов других классов характеризовала первичную острую ЦМВИ, а активация С4-компонента комплемента у 100,0% обследованных больных на 2-3-й неделе заболевания могла служить эквивалентом перехода острой фазы инфекционного процесса в латентный. У трети обследованных больных угнетение нейтрофильного звена иммунитета сохранялось на протяжении всего заболевания, что наряду со снижением в динамике В-лимфоцитов и количества IgM без достоверного нарастания IgG могло указывать, по мнению автора, на возможность присоединения бактериальных инфекций в реконвалесцентном периоде.

По заключению автора, наблюдающееся усугубление дефицита В-клеточного звена в динамике заболевания у пациентов характеризует острую стадию ЦМВИ. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ), существенно сниженный в большинстве случаев в разгар заболевания (указывающий на выраженное

повреждение противовирусного звена иммунитета), в динамике возростал до $0,8 \pm 0,2$, что отличает первичную острую вирусную инфекцию (в данном случае ЦМВИ) от прогрессирующей формы вирусных инфекций.

В 4-й главе автором описана терапия острой и реактивированной форм ЦМВИ. Пациенты с первичной формой ЦМВ-инфекции получали ганцикловир в среднетерапевтических дозах продолжительностью $8,4 \pm 0,4$ дня в виде монотерапии или в сочетании с другими препаратами с противовирусной активностью (циклофероном перорально по 4 таблетки в сутки одномоментно кратностью в среднем $6,4 \pm 0,4$ раза). Получены результаты, свидетельствующие о том, что продолжительность лихорадки и стационарного лечения не различаются при монотерапии ганцикловиром или при комбинации ганцикловира с индуктором интерферона циклофероном. Однако при монотерапии ганцикловиром происходит достоверно более быстрая элиминация ДНК ЦМВ из крови, что позволяет рекомендовать использование монотерапии как более эффективного метода лечения.

Раздел «Обсуждение» написан в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Автор обосновывает свои позиции, исходя из полученных ею результатов. Текст написан грамотно, доступно и аргументированно, иллюстрирован таблицами. В литературном обзоре дан анализ вопросов, поставленных авторов для решения задачи исследования.

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

1. Выносится положение как научная новизна «Продemonстрировано, что иммунные нарушения при первичной ЦМВ-инфекции носят характер преходящего вторичного иммунодефицита на фоне самоограничивающейся вирусной инфекции. Это положение представляется спорным, так как у 80 – 90% иммуносохранных людей заражение ЦМВ приводит к пожизненному латентному течению

2. Иногда встречаются слитно написанные слова (стр.105, «помимолабораторных»),

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

Заключение. Диссертация Ковалевской Ольги Ивановны на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, на тему: «Клинико-лабораторная характеристика и лечение острой цитомегаловирусной инфекции у взрослых неиммунокомпрометированных пациентов» по специальности инфекционные болезни - 14.01.09 является самостоятельным научно-квалификационным трудом, позволяющим решить задачу дифференциальной диагностики первичной острой цитомегаловирусной-инфекции и реактивированной хронической формы, что ускорит своевременное обследование и лечение этого заболевания, почти в 82% случаях ошибочно диагностируемого. По актуальности, объему исследований, методическому обеспечению и полученным результатам работа Ковалевской О.И., выполненная при научном руководстве д.м.н., профессора Жуковой Л.И., соответствует требованиям пункта п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09. – инфекционные болезни.

Заведующий кафедрой инфекционных болезней,
эпидемиологии и дерматовенерологии ГБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный университет»
доктор медицинских наук, профессор

А.А.Яковлев

1 сентября 2017 года



Подпись Яковлева А.А.

Секретарь
начальника

Краснова Е.П.

Санкт-Петербургский государственный университет
Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9
т. (812) 328-20-00 spbu@spbu.ru