

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Ирины Владимировны Бабаченко о диссертационной работе Деминой Ольги Игоревны «Клинико-иммунологические варианты инфекционного мононуклеоза различной этиологии у детей», представленной в диссертационный совет Д 208.071.01 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 — Инфекционные болезни

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа О.И. Деминой посвящена актуальной проблеме – совершенствованию диагностики и прогнозированию исхода в хроническую форму инфекционного мононуклеоза (ИМ), вызванного вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и другими герпесвирусами (вирусами герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6) и цитомегаловирусами (ЦМВ), как в моно-, так и в сочетанных вариантах) у детей.

Инфекционный мононуклеоз ВЭБ-этиологии является распространенным герпесвирусным заболеванием, регистрируемым преимущественно в детском возрасте: в 75% случаев – до 17 лет, в том числе в 64% - у детей до 14 лет. Известно, что пик первичного инфицирования детей приходится на возраст 2-х-3-х лет и обусловлен началом посещения детских дошкольных учреждений. Первичные проявления могут протекать, как виде инфекционного мононуклеоза, так и острых респираторных заболеваний, а клинические проявления ИМ нередко реализуются позднее, в том числе на фоне заражения другими герпесвирусами. Роль герпесвирусов (ГВ) 4, 5 и 6 типов и их сочетаний как этиологических факторов ИМ, особенно у детей, не только отражено в международной классификации болезней 10 пересмотра, но и часто описывается педиатрами и инфекционистами, работающими с педиатрическим контингентом, однако до сих пор недостаточно изучено их взаимное влияние на клинические проявления ИМ, эффективность его лабораторного подтверждения и частоту формирования хронической активной формы ИМ у реконвалесцентов.

Широкое внедрение в лечебно-диагностических учреждениях серологических и молекулярно-генетических методов выявления герпесвирусов требует определения их эффективности при сочетанных герпесвирусных инфекциях, а также разработки алгоритма лабораторной диагностики ИМ у детей с учетом диагностической эффективности и достаточности предлагаемых лабораторных методов, а также возможности широкого

применения в практике медицинских учреждений. Актуальность исследования обусловлена преимущественным использованием в учреждениях здравоохранения одного из методов (полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления ДНК ГВ или иммуноферментного анализа для обнаружения специфических иммуноглобулинов разных классов, чаще позволяющих определить фазу инфекционного процесса (острую, латентную, реактивацию персистирующей или хронической инфекции). В последние годы ряд исследователей настаивают на необходимости параллельного обследования различных биологических локусов, а также постановки количественной ПЦР. Подобный подход несомненно имеет научное значение, но в настоящее время не применим в практическом здравоохранении, так как существенно удорожает обследование пациента

Медико-социальная значимость прогнозирования исхода ИМ в хроническую форму обусловлена тропностью ГВ к иммунокомпетентным клеткам, их пожизненным персистированием, полиорганными повреждениями, периодической реактивацией с формированием лимфопролиферативной, аутоиммунной, онкологической патологии, а также хронических воспалительных заболеваний печени, сердца, нервной системы, развитием вторичных иммунодефицитных состояний и заболеваний системы крови, что обуславливает важность выявления иммунологических маркеров прогнозирования риска хронического течения ИМ у реконвалесцентов. Исследования, ранее проведенные у детей, в том числе отечественными авторами (Хмилевская С.А., 2010), показывают необходимость дифференциальной диагностики острых и хронических форм заболевания, рецидивы которых клинически мало отличимы от острого ИМ, однако может меняться риск развития органных поражений, что влияет на дальнейшую разработку системы диспансеризации и реабилитации реконвалесцентов ИМ.

Таким образом, актуальность диссертации Деминой О.И., в которой получены новые данные о клинико-гематологических, иммунологических, молекулярно-генетических и серологических изменениях у детей, больных ИМ моно- и микст- Эпштейна-Барр вирусной этиологии, а также инфекционным мононуклеозом, обусловленным другими ГВ (5 и 6 типов); установлены лабораторные маркеры формирования хронического ИМ, в том числе с применением инновационного метода клеточного биочипа, не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Подробный анализ как отечественной, так и зарубежной литературы последнего десятилетия, в 50% - последних 5 лет, позволили диссертанту получить представление о

состоянии изучаемой проблемы у детей, определить цель и задачи исследования. Методологическую основу диссертационной работы составило применение методов научного поиска с применением систематизированного подхода на основании методов доказательной медицины. План выполнения этапов работы составлен в соответствии с поставленной целью и задачами; тщательно подобраны объекты и определены методы современной, в том числе инновационной, диагностики. Исследование являлось наблюдательным, когортным, проспективным. Контингент для исследования подбирали методом случайной выборки.

В работе проанализированы данные комплексного обследования 107 детей с первым эпизодом инфекционного мононуклеоза в возрасте от 3-х месяцев до 17 лет, поступивших в ГБУЗ «ДГКБ им. З.А.Башляевой» за период 2013-2018 гг. Глубина катamnестического наблюдения составила от 2 до 6 лет. Достоверность представленных данных обусловлена тщательным планированием дизайна работы, продуманным использованием критериев включения и исключения пациентов, адекватным применением статистических методов. Сформированные группы полностью соответствуют целям и задачам, поставленным в работе. В диссертационном исследовании применен комплексный методологический подход с использованием анамнестического и катamnестического, клинического, инструментального и лабораторных методов (в том числе, гематологического, биохимического, иммунологического с использованием инновационной методики «клеточного биочипа», прямых и серологических методов этиологической диагностики), современные методы статистического анализа. Математическая обработка полученных результатов проводилась в соответствии с принципами доказательной медицины.

Достаточный объем выполненных исследований, использованные адекватные методы статистической обработки полученного материала позволяют судить о высокой статистической значимости результатов работы и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

В диссертационном исследовании у больных инфекционным мононуклеозом, вызванном вирусом Эпштейна-Барр, другими ГВ автором получены новые данные о клинико-лабораторных, иммунологических, молекулярно-генетических особенностях и различиях инфекционного мононуклеоза, обусловленного ВЭБ, ВГЧ6 и ЦМВ в моно- и сочетанных этиологических вариантах у детей при первичном инфицировании и реактивации ГВ. Впервые было убедительно показано, что считавшееся важным

диагностическим критерием ИМ количество атипичных мононуклеаров (АМ) в гемограмме более 10% не является его достоверным признаком и наиболее часто выявляется лишь у детей, больных первичным ВЭБ-ИМ. При реактивации ВЭБ в моно- или сочетанных вариантах, а также при ИМ, ассоциированном с другими ГВ, АМ в периферической крови выявляют редко или не обнаруживают, что отмечается клиницистами при этиологической верификации ИМ у детей с помощью методов этиологической диагностики.

Впервые в инфектологии у детей применен метод клеточного биочипа, который позволил визуализировать иммунные клетки с характерной морфологией атипичного мононуклеара, относящихся к различным кластерам дифференцировки в зависимости от этиологии ИМ. Автором было доказано, что при первичном инфицировании ВЭБ преобладали атипичные мононуклеары, относящиеся к CD8+Т-лимфоцитам, причем количество их более 10% выявлено более, чем у 60% больных детей с моно-ВЭБ-инфекцией, менее 40% - при первичной ВЭБ в сочетании с другими герпесвирусами. У больных ИМ, ассоциированным с ВЭБ, особенно моно-вариантом выявлен также самый низкий иммунорегуляторный индекс ($0,8 \pm 0,15$) и наиболее высокий риск развития неблагоприятного исхода в виде формирования хронического течения ВЭБ-инфекции, по отношению к больным, у которых ИМ обусловлен реактивацией ВЭБ или другими ГВ. Это имеет не только практическое, но и теоретическое значение, так как дополняет современные представления об иммунопатогенезе инфекционного мононуклеоза, в том числе его различных этиологических вариантов.

Результаты клинико-лабораторных исследований, полученных в работе, не только дополняют знания о клинических проявлениях ИМ различной, в том числе сочетанной этиологии у детей, но и позволили автору сформулировать практические рекомендации. Важной для практического здравоохранения рекомендацией является установленный автором факт, что нейтрофилез, выявляемый у больных в остром периоде ИМ при первичном инфицировании, не отражает наличия сопутствующей бактериальной инфекции и не является основанием для назначения антибактериальной терапии, в отличие от нейтрофилеза у пациентов с реактивированной моно- ВЭБ инфекцией, при которой следует начинать антибактериальную терапию.

Новым и важным фактом, установленным автором и позволившим сформулировать практическую рекомендацию, является взаимное влияние герпесвирусов, которое необходимо учитывать при интерпретации результатов метода ПЦР – выявление ДНК одного из вирусов уменьшает шанс выявить ДНК другого, что является научным обоснованием комплексного обследования с применением как ПЦР крови на ГВ 4-6 типов,

так и специфических антител, что подчеркивает также необходимость разработки и внедрения диагностических тест-систем для выявления антител класса IgM к ВГЧ6.

Важное практическое значение, позволяющее снизить финансовую нагрузку на лечебно-профилактические учреждения, имеет также установленный диссертантом факт, обусловивший практическую рекомендацию о достаточности определения ДНК ГВ методом ПЦР в мононуклеарах крови без исследования дополнительных локусов.

Диссертационное исследование позволяет повысить уровень достоверности доказательства эффективности различных методов этиологической диагностики при актуализации клинических рекомендаций, что способствует решению важной практической задачи отечественного здравоохранения.

Полученные данные в ходе диссертационной работы внесены в лечебную и диагностическую работу инфекционных отделений ГБУЗ «ДГКБ им. З.А.Башляевой ДЗМ»

Ряд теоретических положений и рекомендаций исследования включены в образовательный процесс по дисциплине «Инфекционные болезни» для обучения врачей на кафедре детских инфекционных болезней ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Все вышеизложенное подтверждает научную и практическую значимость диссертационного исследования Деминой О.И.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Материалы диссертации неоднократно докладывались на российских конференциях с международным участием, конгрессах и съездах, а также на международном Конгрессе 7th Congress of the European Academy of paediatric societies, Paris, France (2018 г).

Основные положения диссертационного исследования опубликованы в 10 научных работах, из них 4 статьи – в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, одна статья – в зарубежном издании (The Journal of Infectious Diseases, 2020).

Оценка содержания диссертации, ее завершенность, замечания по оформлению диссертации

Диссертация написана по классическому типу: изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, пяти глав результатов собственных исследований, включающих описание групп больных с их характеристикой и методов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшего изучения темы, списка использованной литературы. Работа

иллюстрирована 14 рисунками и 36 таблицами, а также 2 клиническими примерами. Указатель использованной литературы содержит 220 источников, из которых 153 отечественных и 67 зарубежных авторов.

Введение отражает актуальность проблемы. Цель, задачи, научная новизна, практическая значимость четко сформулированы автором. Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы четко, логично и отражают основные результаты исследования.

В главе 1 автор проанализировал большой литературный материал, позволяющий оценить современное состояние проблемы инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна-Барр и другими ГВ у детей. Обзор литературы написан грамотно, хорошим литературным языком, содержит небольшое количество опечаток, стилистических и синтаксических ошибок.

Результаты собственных исследований представлены в четырех главах.

В главе 2 описан дизайн научного исследования. Представлена подробная характеристика обследованных пациентов, приводятся критерии включения и невключения в исследуемую группу, а также исключения из нее. Представлен анализ формирования групп по возрастному и этиологическому принципу. В группах сравнения с учетом этиологии ИМ дана подробная характеристика по тяжести и исходам ИМ с учетом данных катамнеза, описана частота развития осложнений в общей группе. Дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам, соответствует принципам доказательной медицины. Обращает внимание многообразие современных методов исследования – клинических, лабораторных (гематологического, биохимических, иммунологических). Особое внимание уделено описанию инновационного метода клеточного биочипа, ранее не применявшегося в детской инфектологии. Хорошо описаны и грамотно применялись методы статистического анализа. Количество больных достаточно для проведения качественного статистического анализа и обоснования выводов.

В главе 3 диссертационного исследования приводятся подробная клинико-лабораторная характеристика ИМ и сравнительные данные в 5 группах сравнения, сформированных по этиологическому принципу. Описаны возрастные, клинические особенности, различия по гематологическим и биохимическим показателям. Установлены наибольшие шансы развития исхода в хроническое течение у больных с ВЭБ этиологией ИМ. Приведены 2 клинических примера, что повышает иллюстративность и практическую значимость диссертации.

Глава 4 посвящена анализу клинической эффективности наиболее часто применяемых в клинической практике методов верификации герпесвирусов (ИФА и ПЦР). Показаны

различия в частоте выявления серологических маркеров активности первичной и реактивированной ВЭБ-инфекции у детей с мононуклеозом; выявлено, что концентрация антител класса IgG к нуклеарному антигену не влияла на частоту реактивации ВЭБ. Описана вирусная нагрузка ВЭБ в мононуклеарах крови, которая не различалась достоверно в различных возрастных группах и в сравниваемых группах в зависимости от этиологии и фазы инфекционного процесса (первичная ВЭБ или реактивированная); а также ВГЧ6, чаще выявлявшаяся в раннем и дошкольном возрасте. В большинстве случаев (независимо от этиологии и возраста) у больных ИМ выявлялась низкая вирусная нагрузка, что позволило автору сформулировать практическую рекомендацию о достаточности применения качественной ПЦР крови для диагностики и верификации этиологии, что позволяет снизить финансовую нагрузку на учреждения здравоохранения. Важное практическое значение имеют также полученные данные о несовпадении результатов ИФА и ПЦР при диагностике ИМ вне зависимости от этиологии и фазы инфекционного процесса, что научно обосновывает необходимость совместного использования обоих методов.

В 5 главе дано описание результатов применения инновационного клеточного биочипа, показавшего высокую чувствительность при выявлении атипичных мононуклеаров (АМ), которые редко выявляют у детей в концентрации более 10% (что ранее отмечали как диагностический признак ИМ). Сопоставление частоты их выявления в гемограммах больных детей и методом клеточного биочипа показало, что диагностически значимый процент АМ характерен лишь для 60% детей с первичной ВЭБ-инфекцией и менее, чем для 40% больных с сочетанной инфекцией, включая первичную ВЭБ. В других группах АМ выявлялись крайне редко. Анализ иммунологических параметров, полученных методом клеточного биочипа, с помощью современных статистических методов позволил выявить прогностические факторы неблагоприятного исхода ИМ у детей, что позволило автору создать алгоритм прогноза риска хронического течения инфекции у реконвалесцентов, с указанием чувствительности и специфичности каждого из предлагаемых факторов риска.

В заключении кратко обобщены результаты исследования.

В результате проведенной работы автор сформулировал 6 выводов, соответствующих цели и задачам исследования, а также 4 практических рекомендации, имеющих четкую клиническую направленность. Представленные выводы и практические рекомендации соответствуют данным, изложенным в диссертации, логично вытекают из результатов исследования, обоснованы и достоверны, так как получены в результате достаточного объема обследований, проведенного на высоком методическом уровне с использованием адекватных методов статистического анализа, соответствующих современным

международным требованиям. Практические рекомендации конкретные, логично вытекают из результатов проведенного исследования.

Замечания по содержанию и оформлению работы

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационного исследования нет. Общая оценка диссертационной работы О.И. Деминой положительная. Хочется отметить высокий уровень статистической обработки материала, позволивший сделать выводы и создать практические рекомендации. Отмечая достоинства диссертационной работы, ее практическую значимость и научную новизну, следует высказать следующее замечание:

Заключение в диссертационной работе очень короткое, отсутствует обсуждение результатов исследования, в том числе данных иммунологического обследования.

В процессе рецензирования возник вопрос к автору:

В работе отсутствует определение хронической герпесвирусной инфекции, в том числе как неблагоприятного исхода инфекционного мононуклеоза. Каким образом автор различал реактивацию ГВ при включении пациентов с отягощенным анамнезом в исследование и первично-хроническую форму герпесвирусных инфекций с реактивацией?

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат написан хорошим литературным языком, четко, логично, содержит единичные опечатки. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Диссертация Деминой Ольги Игоревны на тему: «Клинико-иммунологические варианты инфекционного мононуклеоза различной этиологии у детей», является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи по улучшению диагностики и прогнозированию исходов инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна-Барр и другими герпесвирусами при первичном инфицировании и реактивации вирусов у детей, имеющей важное научное и практическое значение для инфектологии и педиатрии.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости работа Деминой Ольги Игоревны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства № 842 России от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ от 28.08.2017 г. № 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её

автор достоин присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 — Инфекционные болезни.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий научно-исследовательским отделом
капельных инфекций Федерального государственного
бюджетного учреждения «Детский научно-клинический
центр инфекционных болезней Федерального
медико-биологического агентства»;

профессор кафедры инфекционных заболеваний
у детей факультета послевузовского и дополнительного
профессионального образования Федерального
государственного бюджетного учреждения высшего
образования «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет»

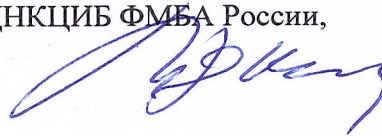
 Ирина Владимировна Бабаченко

Подпись доктора медицинских наук, профессора Бабаченко И.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России,

к.м.н., доцент

07.10.2021.

 Валерий Михайлович Волжанин

Адрес организации: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.9.

Телефон: (812) 234-96-91

Адрес электронной почты: niidi@niidi.ru

Сайт организации: <http://niidi.ru/>

