

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, академик РАН, д.м.н., профессор доктор медицинских наук

В.Г.Акимкин _____

« 18 » мая 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертационной работы Шакировой Венеры Гусмановны на тему «Клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом», на соискание ученой степени доктора наук по специальности 3.1.22 «Инфекционные болезни» (Медицинские науки).

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острая вирусная природно-очаговая инфекция, в основе патогенеза которой лежат поражение мелких сосудов вирусом. Заболевание характеризуется циклическим течением с общим инфекционно-токсическим и геморрагическим синдромами, а также специфическим поражением почек (интерстициальный нефрит с развитием острой почечной недостаточности). Широкое распространение, высокие показатели заболеваемости, значительная частота тяжелых форм течения болезни, сопровождающихся длительным периодом пониженной трудоспособности, отсутствие специфических средств лечения и профилактики обуславливают высокую социальную и медицинскую значимость проблемы ГЛПС в России.

Считается, что поражение микроциркуляторного русла является центральным звеном патогенеза ГЛПС, приводящее к развитию ДВС-синдрома, гемодинамических нарушений и острого почечного повреждения (ОПП). В настоящий момент отсутствуют сведения о взаимосвязи развития клинической картины ГЛПС с серотипами хантавируса, циркулирующих на территории республики Татарстан. Несмотря на проведение большого количества исследований при ГЛПС, остается неизученной роль хемокинов, интерлейкинов, ростовых факторов, липидов в патогенезе заболевания и их взаимосвязь с иммунным воспалением. Не решены вопросы прогнозирования тяжести ГЛПС в ранние сроки заболевания. В настоящий момент в клинической практике для диагностики ОПП используются традиционные методы с исследованием уровня мочевины и креатинина, хотя существуют более специфичные методы диагностики нарушения функции почек на основе применения уренальных маркеров. Одним из перспективных направлений исследования, безусловно, является изучение маркеров острого почечного повреждения при ГЛПС. Таким образом, актуальность диссертации В.Г. Шакировой не вызывает сомнений.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе использовались молекулярно-генетические методы исследования (на основе ПЦР-анализа и секвенирования фрагментов генома), что позволило впервые изучить генетическое разнообразие популяций PUUV, циркулирующих среди людей и грызунов на территории Республики Татарстан. Впервые установлено, что на территории Республики Татарстан циркулирует только PUUV двух генетических линий – «Россия» и «Финляндия», единственным переносчиком которого является рыжая полевка (*Myodes glareolus*).

Показаны возможности использования ПЦР-анализа для оптимизации решения задач, связанных с верификацией клинического диагноза ГЛПС,

выявлением основных источников инфекции. Дана клинико-лабораторная характеристика ГЛПС в зависимости от серотипов PUUV.

Изучение цитокинового, липидного профиля и серотипов PUUV позволило выявить факторы формирования тяжести течения заболевания у больных ГЛПС.

Исследование 12 биомаркеров в моче больных ГЛПС позволило выявить патологические изменения в почечной ткани указывающие на разные уровни повреждения нефрона.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором диссертации результатов

Автором предложена научная идея генотипирования и филогенетического анализа хантавирусов, циркулирующих на территории Республики Татарстан, позволяющая построить прогноз тяжести течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом и разработать персонализированный подход к выбору тактики ведения пациентов.

Получены данные о циркуляции нескольких штаммов PUUV среди грызунов и людей на территории Республики Татарстан. Сиквенсы штаммов PUUV, выделенные от больных ГЛПС, могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров для определения территории заражения и могут быть применены в практике работы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) с целью оптимизации прогнозирования и профилактики заболеваемости ГЛПС.

Выявленная генетическая неоднородность PUUV вирусов определяет различные клинические варианты течения ГЛПС.

Установлено, что тяжелое течение ГЛПС сопровождается активацией хемокинов CCL3, CCL4, CCL5 в сочетании с активацией Th17 иммунного ответа с повышением IL-17, активацией Th2 с повышением IL-4, IL-5 и IL-13 и выраженной эндотелиальной дисфункцией с повышением ростовых факторов FGF-b, VEGF, PDGF-bb, GM-CSF. Наиболее значимыми маркерами

формирования тяжелого течения ГЛПС в начальном периоде заболевания могут служить хемокины CCL5 и CCL4.

Выявлены особенности липидного профиля у больных ГЛПС в динамике инфекционного процесса. Показано, что ГЛПС сопровождается повышением уровня холестерина, триглицеридов и снижением ЛПВП. Повышение уровня триглицеридов и снижение ЛПВП в начале заболевания могут служить прогностическими маркерами тяжелого течения ГЛПС.

Дана характеристика биомаркеров токсического поражения почек, указывающих на повреждение различных отделов нефрона у больных ГЛПС. Повышение активности уренальных маркеров: кластерина, КИМ-1, NGAL, IL-18, цистатина С свидетельствуют о поражении проксимальных, а GST-π - дистальных отделов канальцев нефрона. Определение кластерина, КИМ-1 в моче, может служить маркером острого почечного повреждения у больных ГЛПС.

На основании полученных результатов разработаны практические рекомендации по совершенствованию клинико-эпидемиологической и иммунологической диагностики ГЛПС, рекомендован индивидуализированный подход в тактике ведения больного с учетом оценки иммуновоспалительных нарушений.

Степень достоверности и обоснованности результатов проведенных исследований

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, доказываются значительным объемом проведенных исследований с использованием современных методов статистической обработки данных. Результаты работы опубликованы в рейтинговых научных журналах, доложены на конференциях, что подтверждает их обоснованность.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Участие автора было представлено на всех этапах исследования: планирование, организация и проведение исследования по всем разделам диссертации: отбор пациентов, заполнение первичной документации участников исследования, клиническое обследование пациентов, контроль забора биоматериала и транспортировки его в лабораторию; проведение аналитического обзора зарубежной и отечественной литературы; выполнение статистического анализа полученных результатов; систематизация полученных результатов. Автором подготовлены материалы для публикаций, сформированы научные положения работы, выводы и практические рекомендации.

Внедрения результатов исследования

Результаты диссертационного исследования Шакировой В.Г., касающиеся выделения сиквенсов штаммов PUUV, циркулирующих на территории республики Татарстан, могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров для определения территории заражения и могут быть применены в практике работы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) с целью оптимизации прогнозирования и профилактики заболеваемости ГЛПС. Включение в комплекс обследования больного ГЛПС исследование триглицеридов, ЛПВП, CCL4, CCL5 в крови позволит прогнозировать тяжесть течения заболевания на ранних этапах. Для оценки нарушения функции почек рекомендовано исследование кластерина и КИМ-1 в моче.

Результаты работы используются в практической деятельности ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. проф. А.Ф. Агафонова» Министерства здравоохранения Республики Татарстан.

Новые научные данные, касающиеся этиологии, патогенеза, клиники и диагностики ГЛПС, включены в программу ординатуры по специальности «Инфекционные болезни» и в учебные планы циклов дополнительного профессионального образования и профессиональной переподготовки,

проводимых кафедрой инфекционных болезней КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация Шакировой Венеры Гусмановны на тему «Клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом», полностью соответствует паспорту специальности 3.1.22 – «Инфекционные болезни». Изучены клинические и лабораторные особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Цель и задачи соответствуют названию диссертационной работы. Основные положения, выносимые на защиту, адекватно формулируют наиболее значимые закономерности, установленные автором по результатам исследования. Обоснованность выводов подтверждена достаточным объемом клинического материала, адекватной статистической обработкой, корректным анализом и интерпретацией полученных данных.

Работа выполнена на современном методическом уровне. Полученные результаты не противоречат данным, представленным в независимых источниках по данной тематике. В работе использованы современные методики сбора и обработки исходной информации с использованием пакета прикладных программ «Statistica-version 10.0». Достоверность полученных результатов обеспечена применением методов исследования, адекватных поставленным задачам. Количество оцениваемых показателей достаточно для проведения полноценного анализа и формулировки достоверных выводов.

Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа изложена на 228 страницах компьютерного текста, состоит из введения, литературного обзора, 4 глав собственных

исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 129 отечественных и 323 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 28 таблицами и 27 рисунками.

Введение отражает актуальность, четко сформулированную цель, задачи, научную новизну, практическую значимость, основные положения, выносимые на защиту.

В главе 1 автором представлен анализ литературы, позволяющий в полной мере оценить современные аспекты клиники, эпидемиологии, иммунопатогенеза ГЛПС, значение липидного обмена, цитокинового статуса в норме и при различной патологии, в частности при заболеваниях почек. Представлен обзор современных маркеров почечного повреждения. Обзор написан грамотно, литературным языком.

В главе 2 описаны материалы и методы научного исследования, представлена общая характеристика исследуемых больных, критерии включения и исключения пациентов из наблюдений, методы исследования и обработки данных. Все представленные методы адекватны поставленным задачам и не вызывают сомнений в их достоверности. Методы статистического анализа соответствуют стандартам, принятым для медико-биологических исследований. Количество больных достаточно для проведения качественного статистического анализа и обоснования выводов.

Результаты собственных исследований представлены в трех главах. В главе 3 представлена клинико-эпидемиологическая характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в республике Татарстан. Эпидемиологическая характеристика включала себя анализ эпидемиологической ситуации в РТ за период с 2005 по 2019 годы, так же изучение циркуляции хантавирусов в популяции грызунов и у больных ГЛПС. На территории РТ выявлена циркуляция только штамма PUUV. Показано, что единственным природным резервуаром штамма PUUV в РТ является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*). Проведен филогенетический

анализ сиквенсов PUUV, выделенных из тканей рыжей полевки и у больных ГЛПС. Среди популяции рыжих полевок в РТ определена совместная циркуляция двух генетических линий PUUV – «Россия» и «Финляндия». Дана подробная клинико-лабораторная характеристика 417 пациентов с ГЛПС в зависимости от тяжести и периода заболевания. Представлен сравнительный анализ клинической картины и лабораторных данных больных ГЛПС, вызванных штаммами PUUV линиями «Финляндия» и «Россия». Установлено, что штаммы PUUV линии «Россия» вызывают заболевание, которое чаще сопровождается болью в поясничной области, нарушением зрения, значительным повышением уровня креатинина, АСТ, снижением тромбоцитов, в отличие от штаммов PUUV линии «Финляндия», которые вызывают более легкую форму ГЛПС.

Приведено описание клинического случая больного ГЛПС с летальным исходом.

В главе 4 была изучены патогенетические аспекты геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Исследование цитокинового статуса больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом с определением 48 цитокинов в зависимости от стадии, тяжести, пола показало, что тяжелое течение ГЛПС сопровождается высокой активацией хемокинов CCL3 CCL4 CCL5, активацией Th17 иммунного ответа с повышением IL-17, активацией Th2 иммунного ответа с повышением IL-4, IL-5 и IL-13, выраженной эндотелиальной дисфункции с повышением ростовых факторов FGF-b, VEGF, PDGF- bb, GM-CSF, при этом легкое течение ГЛПС сопровождается повышенной активацией других цитокинов TRAIL, CCL7, IL-16, IL-3, IL-12p40, IFN α 2. Выявлено, что у мужчин ГЛПС протекает с более выраженной активацией IL-17, хемокинов CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, а также IL-8, приводящих к более тяжелому течению заболевания, у женщин заболевание сопровождается более выраженной активацией CCL-7, IL-12p40, обеспечивающих более легкий вариант течения заболевания.

Исследование липидного профиля у больных ГЛПС выявило значительную дислипидемию. Было показано, что профиль липидов плазмы отличается в зависимости от стадии и тяжести ГЛПС и что уровни триглицеридов и ЛПВП могут быть использованы в качестве потенциальных предикторов тяжелого течения заболевания.

Изменения функции почек у больных ГЛПС, исследованные с помощью 12 уренальных маркеров выявили что ранние изменения функции почек вызваны повреждением эпителия проксимальных канальцев нефрона, а на поздних стадиях заболевания симптомы почечного повреждения определяются повреждением эпителия проксимальных и дистальной канальцев.

В заключительной главе диссертационной работы проведено аналитическое обсуждение результатов проведенного исследования в сопоставлении с имеющимися в медицинской научной литературе данными.

Работа завершается выводами, практическими рекомендациями, возможными направлениями дальнейшей разработки темы, списком литературы и использованных в работе сокращений.

Выводы соответствуют задачам исследования и раскрывают поставленную цель.

Таким образом, работа Шакировой В.Г. представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертационным работам, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

В автореферате изложены основные положения и выводы диссертации, отражена обобщающая характеристика работы. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

Основные положения диссертации отражены в 53 научных работах, из них 23 печатные работы в ведущих рецензируемых научных журналах, в том числе включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России - 7 и 16 – в иностранных журналах из перечней Scopus и Web of Science, а также в 3 учебно-методических пособиях и 1 патенте на изобретение. Материалы диссертации неоднократно докладывались на Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием и конгрессах.

Рекомендации по использованию результатов, выводов и практических рекомендации диссертационной работы

Результаты исследования могут быть внедрены в практику здравоохранения в виде комплексных лечебно-диагностических алгоритмов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом.

Материалы исследования также могут быть использованы в профессионально-образовательной деятельности по программам ординатуры и аспирантуры по специальности «Инфекционные болезни», на циклах общего усовершенствования врачей-инфекционистов, а также повышения квалификации врачей различных специальностей.

Принципиальные замечания по автореферату и диссертационной работе отсутствуют.

Заключение

Диссертационная работа Шакировой Венеры Гусмановны на тему: «Клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом», представленная к защите на соискание ученой степени доктора наук по специальности 3.1.22 «Инфекционные болезни» (Медицинские науки), является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, у которой решена крупная научная проблема – изучение молекулярно-генетических особенностей хантавирусов и реакцию организма с развитием динамических изменений воспалительных цитокинов, хемокинов, ростовых факторов, формированием эндотелиальной дисфункции, дислипидемии, определяющие

клинические особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом, требующие разработки персонализированного подхода к тактике ведения больного, что имеет важное народнохозяйственное значение.

Работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 г., 21.04.2016 г., 02.08.2016 г., 29.05.2017 г., 28.08.2017 г., 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.22. «Инфекционные болезни» (Медицинские науки).

Отзыв на диссертацию Шакировой В.Г. на тему «Клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом», был заслушан, обсужден и одобрен на внутреннем совещании клинического отдела инфекционной патологии ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (протокол №4 от 4 марта 2022 года).

Заместитель директора по научной работе
член-корр. РАН, д.м.н., проф.



А.В. Горелов

Даю согласие на обработку моих персональных данных:

« 4 » марта 2022 г.