

Федеральное бюджетное учреждение науки
**ОМСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ**

(ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора)
проспект Мира, 7, г. Омск, 644080, телефон (3812) 65-16-33, факс 65-16-33, 65-14-18
<http://www.oniipi.org/>
E-mail: mail@oniipi.org

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, профессор



Н.В.Рудаков

«__» _____ 2018г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора о научно-практической ценности диссертации Замятиной Евгении Владимировны на тему: «Клинико-иммуноцитологические особенности и критерии прогнозирования течения острого клещевого энцефалита», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Актуальность темы выполненной работы

В современный период, несмотря на продолжающееся снижение заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) в целом по России, эпидемиологическая ситуация в ряде регионов остается весьма напряженной. Ежегодно во всех федеральных округах страны, имеющих эндемичные территории, регистрируются тяжелые формы КЭ, нередко с летальным исходом. Весьма значимым клиническим аспектом клещевого энцефалита является отсутствие на сегодняшний день противовирусных средств с доказанной эффективностью прямого действия на возбудитель, в отличие от ситуации с клещевыми бактериальными инфекциями. Отсутствие эффективных этиотропных вариантов лечения выдвигает особые требования к изучению патогенеза и особенностей иммунного ответа при КЭ с целью своевременного проведения адекватной патогенетической терапии.

В связи с изложенным, не вызывает сомнения актуальность диссертационной работы Замятиной Евгении Владимировны, целью которой стало выявление наиболее информативных клинико-эпидемиологических, иммунологических и цитогенетических критериев прогнозирования риска развития тяжелых клинических форм острого клещевого энцефалита в ранние сроки заболевания.

Работа выполнена на кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ) Минздрава России.

Связь выполненной работы с планом соответствующих отраслей наук

Диссертация Замятиной Е.В. выполнена в соответствии с темой научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации АААА-А16-116021010221-1 от 10 февраля 2016 года.

Новизна исследования и полученных результатов

Автором получены новые знания о патогенезе и возможностях прогнозирования течения клещевого энцефалита. Впервые с применением пошагового бинарного логистического регрессионного анализа и ROC-анализа идентифицированы основные клиничко-эпидемиологические, иммунологические и цитогенетические признаки повышенного риска развития очаговой формы клещевого энцефалита, на основании которых разработаны прогностические математические модели. Доказано, что к значимым предикторами очаговой формы КЭ относятся значения показателя активности окислительного стресса – малонового диальдегида (МДА); критерии цитогенетической нестабильности, включающие частоту обнаружения клеток буккального эпителия с микроядрами (МЯ) и частоту обнаружения Т-лимфоцитов с МЯ в культуре клеток периферической крови, а также изменения ряда параметров цитокинового статуса. У больных КЭ впервые выявлена прямая связь между концентрацией МДА, секрецией ФНО- α и уровнями клеток с цитогенетическими нарушениями.

На примере больных лихорадочной формой КЭ впервые установлена связь между повышением уровня клеток с цитогенетическими нарушениями и присутствием в гено типе больного нефункционирующих вариантов генов глутатион-S-трансфераз *GSTM1*(0/0) и/или *GSTT1*(0/0), одной из наиболее важных групп ферментов системы антиоксидантной защиты.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность и обоснованность результатов диссертационного исследования Замятиной Е.В. обеспечена адекватной методологией исследования, достаточным объемом выборки, последовательным решением исследовательских задач, применением современных методов и средств статистической обработки данных.

Значимость результатов для развития соответствующей отрасли науки

Полученные в результате настоящего исследования данные значительно расширяют представления о возможностях раннего прогнозирования риска развития очаговой формы клещевого энцефалита. Идентифицированы наиболее значимые клиничко-эпидемиологические, иммунологические и цитогенетические прогностические критерии и построены три взаимозаменяемые математические модели с применением бинарной логистической регрессии и ROC-анализа, позволяющие формировать группы риска очаговой и менингеальной форм заболевания в раннем периоде до развития очаговой симптоматики. В ходе исследования также получены принципиально новые данные теоретического характера, касающиеся патогенеза клещевого энцефалита. Установлена прямая взаимосвязь между показателями активности окислительного стресса, эндогенной интоксикацией, продукцией провоспалительных цитокинов и/или хромосомными aberrациями у больных клещевым энцефалитом. Это позволяет рассматривать активацию окислительного стресса как один из важных механизмов повышения уровня цитогенетической нестабильности при остром клещевом энцефалите. Для оценки тяжести течения клещевого энцефалита, впервые показана эффективность применения простого и одновременно надежного цитогенетического метода анализа частоты обнаружения буккальных эпителиальных клеток с микроядрами, которые считают биомаркерами геномной нестабильности и мутагенного воздействия эндогенных и экзогенных факторов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные в результате настоящего исследования новые данные значительно расширяют представления о патогенетических механизмах формирования тяжелых форм клещевого энцефалита и возможностях их прогнозирования на раннем этапе заболевания. Установленная связь между показателями активности окислительного стресса, продукцией провоспалительных цитокинов и уровнем хромосомных нарушений позволяет рассматривать активацию окислительного стресса в качестве одного из важных механизмов повышения уровня цитогенетической нестабильности при КЭ. Выявление генетических маркеров

цитогенетической нестабильности у больных КЭ открывает перспективы для продолжения исследований в рамках концепции персонализированной медицины.

Разработанные автором математические прогностические модели могут быть использованы в практической работе для формирования групп повышенного риска развития очаговой формы заболевания и своевременного назначения адекватной патогенетической терапии.

Результаты и выводы диссертационной работы могут быть внедрены в учебный процесс на кафедрах инфекционных болезней и эпидемиологии для студентов, обучающихся по специальностям «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело», для врачей-инфекционистов и ординаторов, слушателей факультета дополнительного профессионального образования и переподготовки кадров высшей квалификации.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертация является завершенной научной работой, построена по традиционному плану и изложена на 145 страницах, состоит из введения, 4 глав (аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения), выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и списка цитируемой литературы, включающего 183 источника, из которых 72 отечественных и 111 зарубежных. Работа иллюстрирована 20 таблицами и 14 рисунками.

Последовательность глав соответствует решаемым задачам исследования.

Выводы, практические рекомендации, положения выносимые на защиту, логично вытекают из результатов исследования, сформулированы корректно.

Во введении раскрыта и обоснована актуальность темы, определены цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, отражены положения выносимые на защиту.

В главе I «Обзор литературы» убедительно представлены современные данные о проблеме клещевого энцефалита в целом, в том числе, актуальность создания математических моделей прогнозирования инфекций и сравнительная характеристика существующих моделей прогнозирования тяжелых форм клещевого энцефалита. Описаны эпидемиологические, клинические, лабораторные прогностические критерии тяжелого течения клещевого энцефалита; описаны механизмы цитогенетических нарушений, индуцированных различными вирусами, и их связи с окислительным стрессом. Представлены результаты исследований полиморфизма некоторых генов и их связь с формами клинического течения инфекций; приведены данные о зависимости клинических вариантов КЭ и некоторых других инфекционных заболеваний от экспрессии медиаторов воспалительного ответа и генетической предрасположенности макроорганизма. Обзор литературы содержит анализ аспектов, касающихся задач, поставленных в диссертационной работе.

В главе 2 «Материалы и методы» подробно дана гендерная и возрастная характеристика больных; описан дизайн исследования; критерии включения и критерии исключения из исследования; применяемые иммунологические, цитогенетические и молекулярно-генетические методы. Представлены использованные для анализа данных статистические программы и статистические методы, включая описательную, сравнительную и аналитическую статистику, бинарную логистическую регрессию и ROC-анализ.

В главе 3 «Результаты собственных исследований» приведены результаты комплексного изучения эпидемиологических, анамнестических, клинико-лабораторных данных больных менингеальной и очаговой формами острого КЭ. Продемонстрировано, что у пациентов, старше 41 года, имеющих предшествующую фоновую патологию в виде двух и более соматических заболеваний, особенно таких, как сахарный диабет (преимущественно 2-го типа), гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца и ожирение, шанс развития очаговой формы КЭ значительно выше. Дана оценка цитокинового статуса, цитогенетической нестабильности и активности окислительного стресса у больных менингеальной и очаговой формами острого клещевого энцефалита, выявлена взаимосвязь окислительного стресса и цитогенетической нестабильности. В частности, установлена прямая корреляционная

зависимость между частотой обнаружения клеток буккального эпителия с микроядрами, частотой лимфоцитов с микроядрами, концентрацией малонового диальдегида в сыворотке крови и продукцией фактора некроза опухоли-альфа в супернатантах культур мононуклеарных клеток крови, что позволило сделать вывод о тесной взаимосвязи окислительного стресса и повреждения ДНК при клещевом энцефалите. Изучено влияние на уровень цитогенетической нестабильности носительства функционирующих или нефункционирующих вариантов генов глутатион-S-трансфераз в генотипе больных острым клещевым энцефалитом. Показано на примере больных с лихорадочной формой КЭ, что частота обнаружения клеток буккального эпителия с микроядрами в динамике (день поступления в стационар – 1 месяц – 3 месяца от момента лечения) зависит от носительства активных (+) или мутантных (0) аллелей генов глутатион-S-трансферазы *GSTM1 / GSTT1*. При этом наибольшие цитогенетические нарушения, сохраняющиеся и в период ранней реконвалесценции, выявлены у больных-носителей мутантных неактивных аллелей генов *GSTM1(0/0)* и *GSTT1(0/0)*. На основе анализа клинко-эпидемиологических данных, а также показателей цитокинового и цитогенетического статусов разработаны математические модели для раннего прогноза очаговой формы острого клещевого энцефалита.

Глава 4 «Обсуждение результатов собственных исследований» посвящена обсуждению основных положений диссертационной работы с привлечением ссылок на современную научную литературу и дискуссии по основным аспектам выполненной работы с авторами ранее опубликованных исследований.

Замечания по работе

Текст диссертации, иллюстрации и библиографический список оформлены в соответствии с действующими требованиями. Представленные в работе таблицы, рисунки и графики достаточно убедительно иллюстрируют полученные автором результаты. Замеченные опечатки не умаляют достоинств работы. Принципиальных замечаний по содержанию работы Замятиной Е.В. нет.

Подтверждения опубликования основных результатов диссертации в научной печати

Основные положения диссертации достаточно полно отражены в 13 печатных работах, в том числе 4 - в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России по дисциплине «инфекционные болезни» для студентов, обучающихся по специальностям «31.05.01 Лечебное дело» и «31.05.02 Педиатрия», для врачей-инфекционистов и ординаторов, а также в лечебно-диагностический процесс инфекционной клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Автореферат диссертации Замятиной Е.В. по содержанию соответствует диссертации, включая основные положения, выводы и практические рекомендации.

Личный вклад диссертанта

Все этапы исследования выполнены при непосредственном участии соискателя. Автор принимала участие в планировании и организации исследования, формулировке цели и задач работы, определении объемов и методов исследования. Диссертантом проведены сбор, анализ и обобщение материалов, сформулированы выводы и практические рекомендации. Анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме и написание диссертации

выполнено лично автором. Диссертант участвовала во всех этапах обсуждения полученных результатов и их опубликования. Личный вклад автора составляет более 80%.

Заключение

Диссертация Замятиной Евгении Владимировны «Клинико-иммуноцитологические особенности и критерии прогнозирования течения острого клещевого энцефалита», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - «Инфекционные болезни», является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – выявление наиболее информативных клинико-эпидемиологических, иммунологических и цитогенетических критериев раннего прогнозирования риска развития тяжелых клинических форм острого клещевого энцефалита, что является существенным вкладом в развитие инфектологии.

По актуальности, научной новизне, объему материала, методическому уровню исследований, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов диссертация Е.В. Замятиной соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г. и №748 от 02.08.2016 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – «Инфекционные болезни».

Диссертационная работа и отзыв обсуждены на заседании Ученого совета ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора 14 ноября 2018 г. (протокол № 7).

Заместитель директора по научной работе
ФБУН «Омский научно-исследовательский
институт природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора, доктор медицинских наук,
доцент

Н.А.Пеньевская

Зав. отделом природно-очаговых бактериальных
зоонозов ФБУН «Омский научно-исследовательский
институт природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора, доктор медицинских наук

С.А. Рудакова

Подписи Н.А.Пеньевской и С.А.Рудаковой заверяю:
Ученый секретарь ФБУН «Омский научно-
исследовательский институт природно-очаговых
инфекций» Роспотребнадзора,
кандидат медицинских наук

Т.А.Решетникова

Подписи Н.А.Пеньевской, С.А.Рудаковой, Т.А. Решетниковой заверяю:
Специалист по кадрам ФБУН «Омский научно-
исследовательский институт природно-очаговых
инфекций» Роспотребнадзора



О.Ю.Омельянович

Дата: «__» _____ 2018 г.