

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента МИНОРАНСКОЙ Натальи Сергеевны
на диссертацию ЗАМЯТИНОЙ Евгении Владимировны
«Клинико-иммуноцитологические особенности и критерии прогнозирования
течения острого клещевого энцефалита», представленную на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Актуальность темы диссертационного исследования

Широкое распространения клещевого энцефалита в России связано с неблагоприятной эпидемической ситуацией и появлением новых эндемичных территорий. В последние годы наблюдается рост заболеваемости клещевым энцефалитом в ранее благополучных районах. Томская область является активным природным очагом клещевых инфекций, в частности, клещевого энцефалита, где показатель заболеваемости превышает общероссийский в пять раз. Вариабельность клинического течения клещевого энцефалита диктует необходимость совершенствования ранней клинической диагностики заболевания, т. к. в дебюте инфекционного процесса весьма затруднительно дифференцировать наиболее тяжело протекающие очаговые формы болезни. Вместе с тем своевременная этиопатогенетическая терапия в зависимости от клинической формы заболевания в подавляющем большинстве случаев обуславливает благоприятный исход.

Экспоненциальный рост исследований существенно расширил имеющиеся представления об иммуноопосредованных механизмах патогенеза клещевого энцефалита и клинической диагностике различных форм заболевания. Вместе с тем остаются дискуссионными вопросы патогенеза, касаемые повреждений ДНК и цитогенетических нарушений в различных типах клеток при клещевом энцефалите. Известно, что эти процессы сопряжены с системным цитокиновым ответом и процессами перекисного окисления липидов. Однако до сих пор не конкретизировано влияние реактивных форм кислорода и инициируемого ими процесса перекисного окисления липидов, а также повреждения макромолекул, включая ДНК, на патогенез и клиническую картину клещевого энцефалита.

На современном этапе развития медицинской науки приобретают значимость дифференцированные математические модели для прогнозирования развития той или иной формы заболевания, исходов инфекционного и патологического процесса, применяемые в практическом здравоохранении. В научной литературе имеются результаты математического процессинга, на основе которых построены регрессионные модели прогнозирования исходов клещевых инфекций, в частности, сочетанного клинического течения клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза, а также модели раннего прогноза развития очаговых форм клещевого энцефалита. Совершенствование математического моделирования и поиск новых информативных предикторов для прогноза клинического течения и исходов клещевого энцефалита с позиций комплексного подхода к клинико-лабораторной диагностике заболевания представляется перспективным направлением инфектологии.

Диссертационная работа Замятиной Евгении Владимировны, целью которой явилось выявление наиболее информативных клинико-эпидемиологических, иммунологических и цитогенетических критериев прогнозирования риска тяжелых клинических форм острого клещевого энцефалита в ранние сроки заболевания, является своевременной и актуальной.

Научная новизна исследования

Впервые на достаточном клиническом материале в результате комплексного клинико-иммунологического и цитогенетического исследования установлены информативные предикторы развития различных клинических форм клещевого энцефалита. Впервые доказано, что частота клеток буккального эпителия с микроядрами и частота Т-лимфоцитов с микроядрами в культуре клеток периферической крови являются маркерами очаговых форм заболевания, и определены их оптимальные пороги отсечения COV (*cut-off value*). Установлено, что уровень продукции интерферона- α , интерферона- γ , интерлейкина-10, фактора некроза опухоли- α и соотношение концентрации фактора некроза опухоли- α к уровню интерлейкина-4, а также уровень

малонового диальдегида как показателя активности окислительного стресса, являются значимыми предикторами развития очаговых форм клещевого энцефалита.

Впервые изучена роль присутствия в генотипе больного нефункционирующих вариантов генов глутатион-S-трансфераз *GSTM1*(0/0) и/или *GSTT1*(0/0) как одной из наиболее важных групп ферментов системы антиоксидантной защиты, и определена зависимость уровня клеток с цитогенетической нестабильностью, активации процессов перекисного окисления липидов и системного цитокинового ответа от наличия этих хромосомных нарушений. Автором установлена связь между повышением уровня клеток с цитогенетическими нарушениями и присутствием в генотипе больного нефункционирующих вариантов генов глутатион-S-трансфераз *GSTM1*(0/0) и/или *GSTT1*(0/0) при лихорадочной форме клещевого энцефалита.

Впервые в результате математического процессинга с использованием пошагового бинарного логистического регрессионного анализа и ROC-анализа определены основные клинико-эпидемиологические, иммунологические и цитогенетические прогностические критерии повышенного риска развития очаговых форм клещевого энцефалита, на основе которых разработаны сложные высокоинформативные математические модели прогноза развития менингеальной и очаговых форм клещевого энцефалита, применимые в раннем периоде инфекционного процесса. Установлены весовые коэффициенты доказательности и прогностической силы для каждого значимого предиктора в координатах «чувствительность – специфичность» и для всех созданных трех моделей, что позволяет исключить все несущественные и избыточные переменные.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений диссертации не вызывает сомнения, и определяется достаточным репрезентативным материалом (217 пациентов с различными клиническими формами клещевого энцефалита и 57 здоровых лиц контрольной

группы), непосредственным участием автора в клинико-лабораторном обследовании больных, системностью исследовательских подходов, использованием высокоинформативных методов исследований, применением сложных методов статистического анализа полученных результатов. Методология исследования выполнена на высоком современном научном уровне. Сформулированные в диссертационной работе положения, выводы и практические рекомендации конкретны, обоснованы и логично вытекают из системного анализа результатов проведенного исследования.

В первом и втором выводах автор определил эпидемиологические, анамнестические и ранние клинико-лабораторные прогностические критерии повышенного риска развития очаговой формы клещевого энцефалита. В третьем выводе приведены наиболее информативные иммунологические и цитогенетические предикторы развития очаговой формы клещевого энцефалита. В четвертом выводе определена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем клеток с цитогенетическими нарушениями и активностью процессов перекисного окисления липидов, а также наличия в генотипе больного нефункционирующих вариантов генов ферментов антиоксидантной защиты. В пятом выводе автор констатирует возможность применения разработанных математических моделей, позволяющих прогнозировать развитие очаговой и менингеальной формы клещевого энцефалита. Широкое применение разработанных регрессионных моделей позволит усовершенствовать раннюю диагностику тяжелых клинических форм клещевого энцефалита.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования обобщают и дополняют теоретические представления о значимости патогенетических механизмов в развитии различных клинических форм клещевого энцефалита. Установленные автором особенности окислительного стресса, системного цитокинового ответа, хромосомные нарушения значительно расширяют имеющиеся представления о патогенезе клещевого энцефалита. Выявленные цитогенетические нарушения

в клетках больных клещевым энцефалитом во многом обуславливают активность процессов перекисного окисления липидов, что открывает новые перспективы в отношении коррекции патогенетической терапии. В ходе диссертационного исследования разработана и обоснована методология прогнозирования развития тех или иных клинических форм заболевания на ранней стадии инфекционного процесса с использованием созданных автором математических моделей, которые позволяют своевременно проводить лечебно-диагностические мероприятия, что в свою очередь может предупредить развитие тяжелых форм клещевого энцефалита.

Структура и содержание диссертации

Диссертационное исследование Замятиной Е. В. соответствует пунктам 1, 2, 3 паспорта научной специальности 14.01.09 – инфекционные болезни. Диссертация изложена в традиционном стиле, и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и списка литературы. Работа оформлена на 145 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 20 таблицами и 14 рисунками, расположенными по тексту диссертации. Список литературы включает 183 современных источника, из них 111 зарубежных.

Во **введении** автором показана актуальность и степень разработанности темы, определены цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология исследования, отражены основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, в котором подробно изложены современные данные по теме исследования. Подробно описаны возможности использования математических моделей и алгоритмов для прогноза тяжести течения некоторых инфекционных заболеваний, в т. ч. клещевого энцефалита, охарактеризованы клинико-эпидемиологические и лабораторные критерии прогноза развития тяжелого течения клещевого энцефалита. Описаны варианты иммунного ответа и цитокинового статуса,

цитогенетических нарушений при различных клинических формах клещевого энцефалита. Диссертант досконально и глубоко проанализировала имеющиеся сведения по данной проблеме, что позволило обосновать задачи и выбранные методы исследования.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» представлены использованные в работе методы, объем и объекты исследования. Описаны дизайн исследования, гендерная и возрастная характеристика пациентов. Применяемые диссертантом клиничко-лабораторные и цитогенетические методы исследования достаточно информативны, и их совокупность позволяет решать поставленные задачи. Подробно описаны методы статистической обработки полученных результатов.

Глава 3 представляет собой описание собственных результатов исследования, и состоит из 2 подглав; подглава 3.1 содержит 4 пункта, подглава 3.2 – 5 пунктов. В подглаве 3.1 в сравнительном аспекте описаны фоновые заболевания, сведения о локализации присасывания клеща, возраст пациентов, клиничко-лабораторные показатели при менингеальной и очаговых формах клещевого энцефалита, и доказана их статистическая значимость для прогноза развития вышеуказанных клинических форм заболевания. Рассчитаны и построены 2 модели прогнозирования развития менингеальной и очаговых форм клещевого энцефалита на основе возрастной характеристики пациентов и длительности заболевания (модель 1) и клинических объективных критериев (модель 2) с применением бинарной логической регрессии. Модели характеризуются «отличным» качеством в координатах «чувствительность – специфичность»; определены значения оптимального порога отсечения COV (*cut-off value*). В подглаве 3.2 представлены особенности системного цитокинового ответа в культурах моноклеарных клеток крови при лихорадочных, менингеальных и очаговых формах клещевого энцефалита. Проведенным ROC-анализом (*receiver operating characteristic*) установлены значения оптимального порога отсечения COV для интерферона- α , интерлейкина-10, фактора некроза опухоли- α «хорошего» и «очень хорошего»

качества как прогностических предикторов развития указанных клинических форм заболевания. Изученные диссертантом цитогенетические нарушения в клетках буккального эпителия и системный цитокиновый ответ позволили создать модель 3 «отличного» качества для формирования групп риска развития тех или иных клинических форм заболевания. Подробно описаны возможности применения созданных в процессе исследования моделей в практическом здравоохранении.

Глава 4 посвящена обсуждению результатов собственных исследований, в которой подводится итог научной работе и дано логическое обоснование выявленных изменений. Целостность работе придает последовательное решение поставленных задач. **Выводы** вытекают из результатов собственных исследований диссертанта и соответствуют поставленным цели и задачам. Предложенные **практические рекомендации** необходимы для повышения эффективности работы практического здравоохранения.

Основные результаты диссертационной работы отражены в 13 печатных работах, в т. ч. в 4 статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных перечнем ВАК Минобразования РФ. Материалы диссертации неоднократно докладывались на научно-практических конференциях различного уровня.

Рекомендации по практическому применению результатов диссертации

Диссертационное исследование Замятиной Е. В. имеет большое практическое значение для здравоохранения, результаты которого способны найти применение для прогнозирования риска развития тяжелых клинических форм клещевого энцефалита в ранние сроки заболевания, а также могут с успехом использоваться в учебном процессе при подготовке клинических ординаторов, врачей-инфекционистов, неврологов в рамках непрерывного медицинского образования.

Замечания и вопросы по диссертации

Диссертационная работа написана грамотно, выдержана в научном стиле, оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011 и требованиями, предъявляемыми к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Единичные стилистические погрешности, орфографические, синтаксические и пунктуационные ошибки, имеющиеся в тексте, не влияют на научно-практическую значимость диссертации.

В порядке дискуссии прошу ответить на следующие вопросы:

1. Какое теоретическое и практическое значение имеет уровень клеток с микродрами у пациентов с различными клиническими формами клещевого энцефалита ? Каковы возможные перспективы применения этого метода в клинической практике ?
2. Какой тип иммунного ответа согласно результатам исследуемых в работе цитокинов превалировал при различных клинических формах клещевого энцефалита ?
3. Чем обусловлен выбор определения малонового диальдегида как маркера окислительного стресса в настоящем исследовании ?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Замятиной Евгении Владимировны на тему «Клинико-иммуноцитологические особенности и критерии прогнозирования течения острого клещевого энцефалита», выполненная под научным руководством доктора медицинских наук, доцента Ильинских Екатерины Николаевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненного автором исследования содержится решение важной научной задачи – выявление спектра патогенетически значимых взаимозависимых изменений антиоксидантной защиты, воспалительных реакций и цитогенетических

Официальный оппонент
доктор медицинских наук,
доцент кафедры инфекционных болезней
и эпидемиологии с курсом
последипломного образования
ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ

Министр

Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ)
Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1
Тел.: +7 (391) 220-13-95
E-mail: bacinf@mail.ru



Миноранская И.
УДОСТОВЕРЯЮ:
с.с. управления кадров.
И.В. Бараненко
«30 11 2018»