

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, доцента,
профессора Коньковой-Рейдман Алены Борисовны на диссертационную
работу Шарифуллиной Ленары Дауфитовны «Клинико-
патогенетические аспекты иксодового клещевого боррелиоза (на
примере Республики Башкортостан)», представленную на соискание
учёной степени кандидата медицинских
наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни**

Актуальность темы исследования

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) представляют серьезную проблему здравоохранения для большинства эндемичных территорий РФ. Гетерогенность возбудителей патогенного комплекса *B. burgdorferi sensu lato*, накопление и систематизация данных о особенностях клинического течения боррелиоза из группы клещевых возвратных лихорадок, вызванного новым геновидом *Borrelia miyamotoi* на различных эндемичных территориях нуждается в углубленном анализе. Отдельного внимания заслуживают эпидемиологические особенности региона, определяющие условия развития эпидемического процесса и лоймопотенциал природных очагов. Среднегодовалая динамика заболеваемости ИКБ в Республике Башкортостан (РБ) характеризуется относительно невысоким уровнем заболеваемости (до 1,0 на 100 тыс. населения) по сравнению с другими субъектами РФ, периодичностью (подъемы через каждые 3-4 года), при этом спонтанная инфицированность клещей боррелиями в различных природных биотопах варьирует в диапазоне от 4,25 до 20% , что определяет медико-социальную значимость изучаемой нозоформы. Спектр клинических проявлений с частым вовлечением в патологический процесс нервной системы, сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата, кожи, склонность к латентному и хроническому течению затрудняют диагностику данной группы инфекционных болезней.

Рядом исследований установлена решающая роль дисбаланса между

Th1- и Th2- типами ответа иммунной системы в патогенезе инфекционных заболеваний. Профиль цитокин-индуцированной секреции отражает интенсивность деструктивно-воспалительных и восстановительных процессов, динамику заболевания.

Изучение клинических, иммунопатогенетических аспектов боррелиозной инфекции является одним из направлений в изучении ИКБ. В научной литературе есть работы по изучению цитокинового статуса у больных ИКБ, но большинство исследований носит концептуальный характер, полученные результаты нередко противоречивы и не исследованы их взаимосвязи с основными клинико-лабораторными показателями заболевания, с системой гемостаза и недостаточно полно выяснено их патогенетическое значение.

Указанный комплекс нерешенных проблем свидетельствует об актуальности и своевременности диссертационной работы Шарифуллиной Л. Д., направленной на изучение клинических и лабораторных показателей при различных формах боррелиозной инфекции, регистрируемой на территории РБ, цитокинового статуса, основных параметров гемостаза, их взаимосвязей с основными клиническими синдромами у больных иксодовыми клещевыми боррелиозами для расширения представлений существующей научной концепции патогенеза данной группы инфекционных болезней, объективной оценки степени тяжести, прогнозирования течения и исходов заболевания.

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

Тщательное изучение и анализ современной литературы позволили автору диссертации получить объективное представление о состоянии изучаемой проблемы, определив цель, задачи и методы исследования. В представленной работе использованы современные и адекватные поставленным задачам методы, рекомендуемые для медико-биологических исследований. В работе проанализированы результаты обследования и

наблюдения 116 пациентов ИКБ различной степени тяжести, госпитализированных в ИКБ № 4 г.Уфы, в инфекционные отделения и КИЗ Янаульской, Татышлинской центральных районных больниц и г. Нефтекамска в период 2014-2017 гг. В качестве контрольной группы обследовано 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу.

Репрезентативность выборки, современные методы статистической обработки полученного материала, использование методов непараметрической статистики, в частности, критерия Манна-Уитни, рангового дисперсионного анализа по Фридману, коэффициента конкордации Кендалла позволяют судить о достоверности и обоснованности положений, выводов и практических рекомендаций. По мере представления материалов диссертационной работы автором излагаются научно обоснованные обобщения с интерпретацией оригинального материала в свете парадигм современной инфектологии и данных литературы.

Цель и задачи, поставленные Л.Д. Шарифуллиной, отражают название работы и заявленную специальность «инфекционные болезни».

Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, четко сформулированы и логично вытекают из результатов исследования и критического анализа литературных источников, используемых автором в соответствии с требованиями к диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Достоверность и новизна полученных результатов исследования

Диссертационные исследования, проведенные автором, выполнены на высоком методическом уровне, результаты подвергнуты научному анализу. Новизна исследований определяется следующим:

на основании изучения региональных особенностей ИКБ установлено, что территория РБ является природным очагом болезни с циклическим и сезонным характером заболеваемости;

дана сравнительная клинико-лабораторная характеристика эритемной

и безэритемной форм боррелиозной инфекции, регистрируемых на территории РБ, в зависимости от степени тяжести и периода заболевания. Впервые на территории республики выявлены случаи ИКБ, вызванные *B.miyamotoi*. Установлено, что у пациентов с безэритемной формой болезни со значимо большей частотой и продолжительностью развиваются интоксикационно-воспалительный синдром и органные поражения;

показана зависимость изменений в цитокиновом статусе от степени тяжести и клинической формы боррелиозной инфекции. Определены статистически значимо высокие уровни провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8, IL-18) в периоде разгара и противовоспалительных (IL-4, IL-10) и двух провоспалительных (IL-6, IFN- γ) цитокинов в периоде реконвалесценции;

впервые исследовано содержание провоспалительного IL-18 в сыворотке крови в динамике боррелиозной инфекции, параллельно и IFN- γ , показано его про- и противовоспалительное действие. Установленные корреляции между содержанием в крови провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-18) и продолжительностью лихорадки, артромиалгического синдрома при легкой и среднетяжелой форме ИКБ отражают выраженность ранней воспалительной реакции и степень тяжести заболевания;

в остром периоде ИКБ показано уменьшение количества тромбоцитов, удлинение АЧТВ, ТВ и повышение уровня Д-димера, более выраженные при безэритемной форме болезни ($p < 0,01$) среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести заболевания, что свидетельствует об активации коагуляционного звена гемостаза, процессов фибринолиза в зависимости от клинического варианта и тяжести течения боррелиозной инфекции.

Достоверность основных положений и выводов диссертации определяется значительным объёмом выполненных исследований. Количество оцениваемых показателей достаточно для проведения полноценного анализа и формулировки достоверных выводов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов исследования

Выявление подтвержденных случаев ИКБ, обусловленного *B.miyamotoi*, на территории РБ, позволяет рекомендовать комплексное лабораторное обследование на иксодовый клещевой боррелиоз, вызванный *B.miyamotoi*, больных с заболеваниями, сопровождающимися высокой лихорадкой после присасывания клеща и при отсутствии эритемы.

Полученные результаты изучения цитокинового профиля в динамике болезни отражают степень выраженности ранней воспалительной реакции, развитие иммунного ответа и могут использоваться для определения степени тяжести и прогнозирования исходов ИКБ.

Внедрение в практику

Данные, полученные в результате проведённого исследования, внедрены в лечебно-диагностическую работу ГБУЗ РБ инфекционной клинической больницы № 4 г. Уфы, инфекционных отделений и КИЗ Янаульской, Татышлинской центральных районных больниц и г. Нефтекамска. Материалы диссертационного исследования используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре инфекционных болезней с курсом ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Материалы диссертации неоднократно докладывались на Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием и конгрессах. Основные положения диссертации отражены в 11 научных работах, в том числе 4 - в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикаций основных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата медицинских наук.

Оценка содержания диссертации, её завершенность

Диссертационная работа построена по традиционному плану и изложена на 174 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключительной главы с обсуждением полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка сокращений.

Работа иллюстрирована 13 таблицами и 29 рисунками. Список литературы представлен 249 источниками, из которых 141 отечественных и 108 зарубежных.

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

В главе 1 автором представлен анализ литературы, позволяющий в полной мере оценить современное состояние проблемы: аспекты патогенеза иксодового клещевого боррелиоза, состояние системы гемостаза, а также значение иммуноцитокиновых изменений в развитии местной и системной иммуновоспалительных реакций, что определяет особенности клинического течения и исходы заболевания. Отдельной подглавой представлены методы лабораторной диагностики иксодовых клещевых боррелиозов.

В главе 2 описаны дизайн и методы научного исследования. Работа выполнена в дизайне открытого сравнительного исследования. Дана общая характеристика больных с четкими критериями рандомизации. Все изучаемые группы репрезентативны по численности, полу и возрасту. Дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам, соответствует принципам доказательной медицины. Методы статистического анализа соответствуют стандартам, принятым для медико-биологических исследований. Количество больных достаточно для проведения качественного статистического анализа и обоснования выводов.

Автором достаточно полно изучен цитокиновый профиль сыворотки

крови в динамике заболевания (6 провоспалительных и 2 противовоспалительных цитокина). Для изучения системы гемостаза были использованы рутинные методы, заключающиеся в изучении количественной характеристики тромбоцитов, уровня фибриногена, активированного частичного тромбинового, протромбинового и тромбинового времени, D-димера в крови.

Результаты собственных исследований представлены в четырёх главах. В главе 3 представлена клиническая характеристика 116 больных ИКБ. У 98 пациентов (84,5%) зарегистрирована эритемная форма боррелиозной инфекции. Автором показано, что выраженность основных клинических синдромов зависит от степени тяжести и клинической формы заболевания. При среднетяжелом течении заболевания, в сравнительном аспекте с легким, достоверно чаще регистрировались интоксикационно-воспалительный, артромиалгический синдромы, лимфаденит ($p < 0,0001$).

У пациентов с безэритемной формой боррелиозной инфекции при средней степени тяжести инфекционного процесса, в сравнении с больными эритемной формой, определялись более длительный инкубационный период ($p < 0,05$), высокая продолжительная лихорадка ($p < 0,01$), статистически значимо чаще развивались органические поражения в виде катарального (55,6% и 7,2%, соответственно), артромиалгического (50,0% и 30,3%), цитолитического синдромов (22,2% и 3,6%), поражения миокарда (16,7% и 1,8%), нервной системы с развитием серозного менингита (5,6% и 0%) и определялся значимый лейкоцитоз ($p < 0,05$). У пациентов с эритемной формой болезни чаще отмечается регионарный лимфаденит ($p \geq 0,05$) и более высокое содержание моноцитов в крови ($p < 0,05$). Автором приведен клинический пример ИКБ, вызванного *B.miyamotoi*.

Полученные результаты о сравнительной характеристике эритемной и безэритемной форм ИКБ средней степени тяжести по структуре основных клинических синдромов заболевания, в целом, соответствуют данным других исследователей, в то же время значительно отличаются по частоте и

продолжительности их проявлений.

Для проникновения из места присасывания клеща в кровеносное русло боррелии при помощи белка OspA связываются с плазминогеном/плазмином и активируют металлопротеиназы хозяина, что приводит к развитию воспалительных реакций в сосудах и сопровождается активацией системы гемостаза. Диссертантом выявлено, что при безэритемной форме боррелиозной инфекции среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести болезни отмечаются статистически достоверные низкие показатели тромбоцитов, удлинение ТВ и АЧТВ, повышение уровня Д-димера в крови, которые свидетельствуют об активации коагуляционного звена гемостаза и фибринолиза и могут отражать степень тяжести инфекционного процесса. Изменения в системе гемостаза, по мнению автора, могут свидетельствовать о развитии латентного ДВС синдрома у пациентов со среднетяжелой формой заболевания.

Выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) положительная корреляционная связь между длительностью артромиалгического синдрома и числом тромбоцитов в периоде ранней реконвалесценции при среднетяжелом течении ИКБ.

Пациентам с ИКБ назначалось комплексное лечение в соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ от 2016 года, согласно которым объем медицинской помощи зависит от степени тяжести и осложнений заболевания.

Глава 4 посвящена изменениям цитокиновых показателей в зависимости от степени тяжести ИКБ в разные периоды заболевания (в период разгара и период ранней реконвалесценции).

Автором установлено, что период разгара боррелиозной инфекции характеризуется усиленной продукцией провоспалительных цитокинов: TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-18, с постепенным уменьшением их уровня в динамике болезни, что отражает раннюю воспалительную реакцию и активацию клеточного звена иммунного ответа. Выявлено постепенное повышение

уровня содержания в крови IL-4, IL-10 и IL-6, IFN- γ с достижением своего пика к периоду обратного развития симптомов болезни на фоне значительного снижения продукции провоспалительных цитокинов, что, с учетом детального анализа литературных данных, свидетельствует о развитии гуморального и клеточного иммунного ответов, приводящих к элиминации возбудителя и выздоровлению больного. Показатели цитокинового профиля оказываются статистически значимо выше при безэритемной форме боррелиозной инфекции среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести заболевания.

Таким образом, автор делает заключение, что в периоде разгара боррелиозной инфекции наблюдается активная продукция провоспалительных цитокинов: TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-18, что обеспечивает раннюю воспалительную реакцию и развитие Th1 типа иммунного ответа. Постепенное повышение в крови содержания противовоспалительных (IL-4 и IL-10) и двух провоспалительных цитокинов (IL-6, IFN- γ) с достижением максимальной концентрации в периоде обратного развития симптомов ИКБ и снижением до вариаций нормы к 3-6 месяцу диспансерного наблюдения способствует формированию Th1/Th2 типа с последующим переходом на Th2-тип иммунного ответов. Более активная продукция и статистически значимо высокие показатели цитокинового профиля крови одинаковой направленности при безэритемной форме ИКБ, по мнению автора, свидетельствуют об ускоренном формировании смешанного Th1/Th2 типа иммунного ответа. По данным литературы, смешанный Th1/Th2- ответ предотвращает хронизацию процесса и обеспечивает благоприятный исход ИКБ.

Отдельный интерес вызывает проспективный клинико-лабораторный мониторинг, проводимый автором, включая параметры цитокинового профиля крови у больных ИКБ в периоде поздней реконвалесценции до 12 месяцев диспансерного наблюдения. По данным диспансеризации у 116 пациентов, находившихся под наблюдением, наступило полное

выздоровление. Полученные результаты автор объясняет включением в исследование больных, поступивших в стационар в ранние сроки боррелиозной инфекции, своевременной диагностикой болезни и рациональной, а в ряде случаев и провизорной, антибиотикотерапией, что подтверждается данными литературы.

В главе 5 изучен факторный анализ между показателями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в зависимости от степени тяжести и периода болезни. В остром периоде иксодового клещевого боррелиоза легкой и средней степени тяжести установлены прямые средней силы корреляционные взаимосвязи между уровнем провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-18) в крови и продолжительностью лихорадки и артромиалгического синдрома ($p < 0,05$), которые указывают на выраженность ранней воспалительной реакции и отражают степень тяжести боррелиозной инфекции. Между значениями противовоспалительного IL-4 и длительностью основных клинических синдромов при боррелиозной инфекции значимые корреляционные связи не прослеживаются ($p > 0,14$), что, по-видимому, свидетельствует о постепенном включении гуморального звена иммунной системы в защиту организма от инфекции.

При среднетяжелом течении болезни выявлена сильная отрицательная корреляция между показателями АЧТВ и IL-4 (r_1), а также между АЧТВ и IL-18 (r_2) в периоде разгара и обратного развития симптомов: $r_1 = -0,53$ и $r_1 = -0,44$ и $r_2 = -0,52$ и $r_2 = -0,63$ соответственно.

В главе обсуждение полученных результатов обобщены и проанализированы данные исследования.

В результате проведенной работы автором сформулированы 5 выводов, соответствующие цели и задачам исследования, а также практические рекомендации, имеющие четкую клиническую направленность. Представленные выводы и практические рекомендации соответствуют данным, изложенным в диссертации, логично вытекают из результатов исследования, обоснованы и достоверны.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат правильно и полно передает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ. Стиль изложения понятен для понимания содержания работы. Содержание автореферата соответствует материалу, представленному в диссертации. Важнейшие положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертационной работе, полностью отражены в автореферате, изложенном на 23 страницах.

Диссертационное исследование Шарифуллиной Ленары Дауфитовны является завершенным оригинальным научным трудом, представляющим практический и научный интерес. В целом литературный и научный стиль заслуживает положительной оценки, равно как и последовательность изложения материала диссертационного исследования.

Критические замечания

1. Описание одного клинического примера боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi*, диагностированного методом иммунного блоттинга, без мониторинговых молекулярно-биологических методов исследования всей когорты пациентов с ИКБ, филогенетического анализа.
2. Следует отметить дискуссионный характер целесообразности исследования клинико-лабораторных показателей больных ИКБ в зависимости от степени тяжести заболевания без учета клинико-патогенетической формы ИКБ (эритемные, безэритемные формы).
3. Терминологические аспекты. Стр. 52. «следы от присасывания клеща», Стр. 72. «узелок диаметром 2-4 мм, покрытый корочкой». Существует термин «первичный аффект».
4. На стр 80. приведена клиническая иллюстрация безэритемной формы ИКБ средней степени тяжести. Не понятен выбор этиотропной терапии – группа карбапенемов (имипенем). Данная

группа антибактериальных препаратов не используется для лечения ИКБ.

Указанные замечания не носят принципиальный характер и не снижают теоретической и практической значимости исследования. Вместе с тем, для уточнения отдельных позиций диссертации хотелось бы получить ответы на ряд вопросов:

1. На стр. 48 Вашей диссертационной работы указано «Результаты инфицированности клещей боррелиями свидетельствуют, что РБ является территорией с высоким риском заражения для населения». Может ли такой эпидемиологический показатель, как спонтанная инфицированность клещей боррелиями, отражать высокий эпидемиологический потенциал природных очагов ИКБ? По данным Вашей работы, в РБ он составляет от 4,25 до 20%. Как вы можете объяснить невысокие показатели заболеваемости в РБ (от 0,15 до 1,57 на 100 тыс.нас.) и цикличность эпидемического процесса (по данным Вашей работы это циклы низкого порядка, повторяющиеся через 3-4 года)?

2. Активация коагуляционного звена гемостаза и процессов фибринолиза при ИКБ подтверждена выявленными Вами изменениями в основных параметрах гемостаза в динамике болезни, более выраженными при безэритемной форме ИКБ. Как патогенетически Вы можете объяснить снижение количества тромбоцитов у больных с безэритемной формой ИКБ и положительную корреляционную связь между длительностью артромиалгического синдрома и числом тромбоцитов в процессе реконвалесценции при среднетяжелом течении инфекционного процесса?

Заключение

Диссертационная работа Шарифуллиной Ленары Дауфитовны «Клинико-патогенетические аспекты иксодового клещевого боррелиоза (на примере Республики Башкортостан)» к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на современном методическом уровне, в которой содержится

решение актуальной научной задачи - установление патогенетического значения параметров цитокинового статуса, гемостаза, клинических и лабораторных синдромов, их взаимосвязей при иксодовых клещевых боррелиозах для оценки степени тяжести и прогноза заболевания, что имеет существенное научно-практическое значение для инфектологии.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости исследование Шарифуллиной Л.Д. соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

Официальный оппонент:

Конькова-Рейдман Алена Борисовна - доктор медицинских наук, доцент (14.01.09 - инфекционные болезни)

Место работы: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры инфекционных болезней.

Адрес организации: 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

e-mail: kanc@chelsma.ru

Телефон/факс: +7 (351) 232-73-71

Подпись доктора медицинских наук, профессора Коньковой-Рейдман Алены Борисовны заверяю:

« 03 » 12 2019 г.

