

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Матузковой Анны Николаевны «ВИЧ-инфекция: состояние маркеров системного воспаления и микробиоты ротоглотки, прогноз течения и оптимизация терапии», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни

Актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений, так как ВИЧ-инфекция продолжает на протяжении многих лет представлять серьезную проблему здравоохранения. Несмотря на тридцатилетнюю историю эпидемического процесса ВИЧ-инфекции и большое количество исследований, посвященных этой проблеме, патогенез заболевания до конца не изучен. Антиретровирусная терапия (АРТ) при ВИЧ-инфекции за счет подавления вирусной репликации восстанавливает функцию иммунной системы, снижает риск развития оппортунистических заболеваний, но, к сожалению, не восстанавливает полное здоровье. Даже после нескольких лет эффективного лечения, у значительной части больных обнаруживают иммунологические нарушения, повышенные маркеры активации иммунной системы и системного воспаления. Особое значение в последнее время имеет изучение основных причин сохранения иммуносупрессии на фоне приема АРТ. Актуальным является уточнение патогенетических механизмов эндотоксинемии и активации маркеров воспаления у больных ВИЧ-инфекцией. Также не менее важен вопрос о поиске стратегий лечения, направленных на купирование постоянной иммунной активации и воспаления, которые могут помочь предотвратить развитие этих состояний. Многие аспекты анализируемой проблемы комплексно в динамике течения ВИЧ-инфекции с учетом современных подходов АРТ не изучались.

В связи с этим диссертационная работа Матузковой А.Н., посвященная изучению прогностической роли биомаркеров системного воспаления у больных ВИЧ-инфекцией и поиску новых стратегий для оптимизации терапии на основании выявленных нарушений, является актуальной и востребованной для практического здравоохранения. Диссертация выполнена в ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора под руководством доктора медицинских наук, профессора Пшеничной Натальи Юрьевны и научного консультанта - доктора медицинских наук Алешукиной Анны Валентиновны.

Научная новизна состоит в том, что впервые определена патогенетическая значимость и прогностическое значение липополисахарид-связывающего белка (LBP) у больных ВИЧ-инфекцией, выполнен комплексный анализ маркеров системного воспаления, эндотоксинемии и активации иммунитета; представлена новая научная идея о необходимости определения маркеров системного воспаления при проведении мониторинга течения ВИЧ-инфекции.

В работе выявлены новые аспекты LPS-индуцированного системного воспаления, особенности фенотипического состава Т-лимфоцитов и изменений их малых клеточных популяций у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от состояния иммунного статуса и уровня концентрации РНК ВИЧ.

Впервые установлены наиболее значимые показатели маркеров системного воспаления (LBP, IL-6, INF- $\gamma$ , INF- $\alpha$  и TNF- $\alpha$ ), определяющие прогноз течения заболевания у больных ВИЧ-инфекцией в субклинической стадии и стадии вторичных заболеваний в фазе клинической ремиссии.

Установлены особенности состава микробиоты ротоглотки у взрослых больных ВИЧ-инфекцией. Выявлена интенсивная колонизация слизистой ротоглотки условно-патогенной микробной флорой в высоких количественных титрах в сравнении со здоровыми лицами. Определены взаимосвязи изменений микробного состава биотопа с основными иммунологическими и вирусологическими показателями. Предложена противовоспалительная и иммуномодулирующая терапия, снижающая концентрацию LBP и способствующая нормализации состава микробиоты ротоглотки.

Значимость полученных результатов для науки и практики. Работа направлена на решение важной научной проблемы – оптимизацию мониторинга течения ВИЧ-инфекции. Новым научным направлением явилась концепция о патогенетической значимости системного воспаления и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией, которая позволила определить прогностическое значение определения концентрации маркера антиэндотоксиновой защиты LBP, уровней ИНФ- $\gamma$ , ИНФ- $\alpha$ , IL-6 и процентного содержания активированных CD8+ Т-лимфоцитов с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что полученные результаты расширяют понимание о системном воспалении при ВИЧ-инфекции, в том числе и на фоне АРТ.

Практическая ценность диссертационной работы обусловлена патогенетическим обоснованием формирования прогностических критериев неблагоприятного течения ВИЧ-инфекции и разработкой новых подходов для лечения больных ВИЧ-инфекцией с хроническими поражениями слизистой ротоглотки. На основании изучения патогенетических особенностей ВИЧ-инфекции предложено применение противовоспалительного и иммуномодулирующего препарата АДФНа для терапии очаговой хронической инфекции ротоглотки и снижения бремени системной воспалительной реакции организма.

Предложенные практические рекомендации могут быть использованы в лечебно-диагностическом процессе врачами инфекционистами при наблюдении и лечении больных ВИЧ-инфекцией, в медицинских ВУЗах и профильных кафедрах на факультете последипломной и дополнительной профессиональной переподготовки врачей инфекционистов.

Результаты работы внедрены в работу Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора; в работу ГБУЗ «Адыгейский республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом»; в учебный процесс на кафедре фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

**Апробация и публикация материалов исследования.** Результаты исследования прошли апробацию на конгрессах и научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. Материалы исследования представлены в 27 научных работах, в том числе – 5 в журналах, рекомендованных ВАК, 4 – в зарубежных научных изданиях, получен патент на изобретение (№ 2697392) «Способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции у больных, получающих антиретровирусную терапию». Публикации по теме диссертации полностью соответствуют содержанию работы.

**Объем и структура диссертационной работы.** Представленная на отзыв диссертационная работа изложена на 165 страницах машинописного текста и включает

введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы», 3 главы собственных исследований, обсуждение результатов проведенного исследования, выводы, практические рекомендации, список литературы и приложения. Работа достаточно иллюстрирована таблицами и рисунками.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

**Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Цель полностью отражает суть исследования. Задачи исследования соответствуют цели. Положения, выносимые на защиту, подробно и логично раскрыты в выводах.

Автором выполнено и представлено исследование, основанное на детальном анализе клинических и лабораторных показателей, характеризующих патогенетические аспекты ВИЧ-инфекции.

Объем исследования достаточен, данные анализа медицинской документации, клинических и лабораторных исследований больных ВИЧ-инфекцией (276 больных) подтверждают обоснованность научных положений. Особенно важное значение имеет использование современных иммунологических методов исследования, существенно повышающих достоверность полученных данных. Тщательный анализ фактического материала, полученного при проведении исследования, позволил сформулировать логично вытекающие из сути работы предложения, имеющие практическое значение.

Клиническая часть исследования включала сбор и оценку аналитических данных, осмотр и динамическое наблюдение, а также проведение лабораторных исследований, оценивающих состояние цитокинового профиля (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, INF- $\gamma$ , INF- $\alpha$ , ПКТ) и иммунного статуса, а также определялись косвенный маркер эндотоксинемии липополисахарид-связывающий белок, вирусологические показатели, качественный и количественный состав микробиоты ротоглотки у 276 больных ВИЧ-инфекцией. Для оценки функционального состояния иммунной системы проводили развернутое изучение иммунного статуса с определением ключевых параметров клеточного звена иммунитета и иммунофенотипирование лимфоцитов методом

проточной цитометрии. В ходе исследования автором использованы классические микробиологические методики для определения состава микробиоты ротоглотки.

Таким образом, в работе представлен адекватный поставленным задачам исследования методологический подход с использованием современных методов исследования. Весь представленный материал был подвергнут диссертанткой тщательной статистической обработке с использованием однофакторного дисперсионного анализа, критерия Стьюдента, коэффициента корреляции Пирсона, бинарной логистической регрессии с построением ROC-кривой. Обоснованность и достоверность научных положений, выдвигаемых автором, выводов и практических рекомендаций обусловлены достаточным объемом наблюдений и проведенных исследований, использованием современных методов, соответствующим поставленным задачам, а также адекватной статистической обработкой полученных результатов.

**Личное участие автора** осуществлялось на всех этапах подготовки и проведения исследования. Автором был разработан клинический протокол исследования, заполнена первичная документация участников исследования, проведено клиническое обследование пациентов, осуществлен контроль забора биоматериала и транспортировки его в лабораторию; проведен аналитический обзор зарубежной и отечественной литературы по теме диссертации; создана база данных участников исследования; выполнен статистический анализ полученных результатов; систематизированы полученные результаты, подготовлены материалы к публикации; сформулированы выводы и практические рекомендации.

**Содержание и оформление диссертации.** Диссертация выполнена в соответствии с действующими ГОСТ, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», 3-х глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, приложения и списка литературы.

Диссертация имеет завершенный характер, поскольку цель работы достигнута, все поставленные автором задачи успешно решены, полученный фактический материал статистически обработан и проанализирован, выводы конкретны, лаконичны и логически вытекают из ее содержания, практические рекомендации четко сформулированы и носят адресный характер.

Диссертация написана хорошим литературным языком и весьма грамотно. Работа достаточно иллюстрирована, в ней присутствуют в необходимом количестве и таблицы, и рисунки.

Введение полностью раскрывает актуальность проблемы, обосновывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы. Цель работы лаконична, конкретна, сформулированные задачи соответствуют цели. Положения, выносимые на защиту, состоят из 4 пунктов.

В главе «Обзор литературы» автором приводятся сведения, отражающие современные представления отечественных и зарубежных исследователей о патогенетических аспектах микробной транслокации, системного воспаления и иммунной активации при ВИЧ-инфекции и вопросах повышения эффективности лечения заболевания. Изученные литературные данные свидетельствуют о достаточной информационной проработке исследования, что позволило автору выделить наиболее проблемные вопросы по теме исследования.

В главе «Материалы и методы» представлены дизайн исследования, характеристики обследованных пациентов. В соответствии с поставленной целью исследование было сформировано из 2-х основных частей. На первом этапе работ проводилось изучение прогностической значимости маркеров эндотоксинемии, системного воспаления, иммунной активации и микробиоценоза ротоглотки у 276 взрослых больных ВИЧ-инфекцией, соответствующих критериям включения в исследование, в зависимости от приема АРТ, показателей иммунного статуса и репликации ВИЧ. Также изучалась диагностическая значимость исследуемых маркеров системного воспаления и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с различной иммунологической эффективностью. На втором этапе работ было проведено сравнительное открытое проспективное клиническое исследование группы больных ВИЧ-инфекцией с хроническими поражениями слизистой полости рта и ротоглотки, одна из которых получала антиретровирусную терапию, а другая, АРТ, дополненную АДФНа. Автором подробно изложены используемые в работе методы исследования. Методы статистической обработки аргументированы и адекватны поставленным задачам.

В 3-й главе, посвященной представлению собственных данных о влиянии системного воспаления и активации иммунитета на течение ВИЧ-инфекции, содержится подробная комплексная характеристика изменений изучаемых маркеров системного воспалительного ответа у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от АРТ, показателей иммунного статуса и уровня репликации РНК ВИЧ (вирусной нагрузки). Автором определены взаимосвязи показателей системного воспалительного ответа и клеточного иммунитета. Благодаря применению современных иммунологических методов исследования получены важные результаты фенотипирования лимфоцитов периферической крови в группах больных ВИЧ-инфекцией. Большой интерес представляют результаты изучения качественного и количественного состава микробиоты ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией с признаками локального в ней воспаления.

В главе 4 «Прогностическая значимость мониторинга основных маркеров активации иммунной системы и системного воспаления у больных ВИЧ-инфекцией» представлена оригинальная методика прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции на основании определения интегративного коэффициента, который рассчитывается на основании показателей процентного содержания CD8+T-лимфоцитов с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR и концентраций LBP, IL6, INF- $\gamma$  и INF- $\alpha$  в сыворотке пациентов.

Глава 5 посвящена поиску новых терапевтических решений, способных оказывать положительное влияние у больных ВИЧ-инфекцией с хроническим поражением слизистой полости рта и ротоглотки. С этой целью проводилось изучение возможности применения сублингвальной формы АДФНа у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ. В исследовании продемонстрировано положительное влияние АДФНа на состояние микробной экосистемы слизистой ротоглотки и маркера системного воспаления LBP. Также у пациентов, получавших АДФНа, была отмечена положительная динамика объективных данных, выявленных при осмотре слизистых рта и ротоглотки, и достоверное уменьшение выраженности субъективных ощущений.

В разделе «Обсуждение результатов исследования» представлен сравнительный анализ результатов собственных данных и сведения других исследователей.

По результатам работы сформулированы выводы, которые логично вытекают из полученных автором данных.

Дальнейшая разработка темы перспективна, так как продолжение изучения вопросов патогенеза ВИЧ-инфекции будет способствовать расширению методов мониторинга течения ВИЧ-инфекции, совершенствованию тактики лечения и повышению качества оказания медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией.

Автореферат достаточно полно отображает содержание самой работы.

Принципиальных замечаний по работе нет, в качестве пожелания хотелось увидеть оценку прогностической модели на контрольной выборке пациентов в реальной клинической практике.

В ходе ознакомления возникли вопросы к диссертанту уточняющего характера:

1. С чем связан выбор липополисахарид-связывающего белка в качестве маркера эндотоксинемии?
2. Является ли предложенная Вами прогностическая модель универсальной для всех больных ВИЧ-инфекцией?

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Матузковой Анны Николаевны «ВИЧ-инфекция: состояние маркеров системного воспаления и микробиоты ротоглотки, прогноз течения и оптимизация терапии», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи – разработка прогностической модели течения заболевания, а также изучение эффективности новых подходов к лечению хронического поражения слизистой оболочки ротоглотки, сопровождающегося изменениями микробиоты у больных ВИЧ-инфекцией. Полученные результаты имеют высокую теоретическую и практическую значимость для инфектологии и медицинской науки.

Результаты исследования могут быть внедрены в практическую деятельность врачей инфекционистов, а также в учебный процесс кафедр инфекционных болезней. По своей актуальности, новизне проведенных исследований, теоретической и практической значимости диссертационная работа Матузковой А.Н. полностью соответствует требованиям п.9. «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (в действующей редакции) к кандидатским диссертациям и паспорту по специальности

14.01.09 - инфекционные болезни, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Матузкова Анна Николаевна, заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 - инфекционные болезни.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой инфекционных болезней

ГБОУ ВО Саратовский ГМУ

им. В. И. Разумовского Минздрава России

доктор медицинских наук (14.01.09 - инфекционные болезни)

профессор

Андрей Анатольевич Шульдяков

Саратовский ГМУ

—

ПОДПИСИ

ЗАВЕРЬ

Секретарь

Тел. +7-917-326-9869, e-mail \_\_\_\_\_

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России (ГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России)  
410012, Приволжский федеральный округ, Саратовская область, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112, Телефон: (845-2) 20-18-09, (845-2) 20-18-19, e-mail: [meduniv@sgmu.ru](mailto:meduniv@sgmu.ru)  
официальный сайт <http://www.sgm.ru>