

ВІДГУК

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Рябокони Олени Вячеславівни на дисертаційну роботу Литвин Катерини
Юріївни на тему «ВІЛ-асоційовані інфекційні ураження головного мозку:
клініко-імунологічні, морфологічні характеристики, діагностика та
лікування», подану до спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04 на здобуття
наукового ступеню доктора медичних наук за спеціальністю
14.01.13 – інфекційні хвороби**

Актуальність роботи.

Дисертаційна робота Литвин Катерини Юріївни присвячена актуальній проблемі інфектології, а саме ВІЛ-асоційованим інфекційним ураженням головного мозку. На сьогодні за оцінками об'єднаної програми Організації Об'єднаних Націй з ВІЛ/СНІД в світі більш ніж 37 мільйонів людей живуть із ВІЛ, кількість нових випадків за рік складає близько 2 мільйонів, та 1 мільйон людей вмирає від хвороб, пов'язаних зі СНІД. В Україні на початок 2018 року зареєстровано 141 371 ВІЛ-інфікованих громадян, з яких більше третини це хворі на СНІД. Головні епідемічні показники з ВІЛ-інфекції та СНІДу в Україні є одними з найгірших у Європі. Ускладнює ситуацію пізнє встановлення діагнозу ВІЛ-інфекції. При цьому сучасні дослідження свідчать, що у 40-70 % людей, які живуть із ВІЛ з часом розвиваються захворювання центральної нервової системи, призводячи до важких наслідків та значно збільшуючи ризик летальності. Офіційна статистика відносно структури ВІЛ-асоційованих уражень нервової системи відсутня, а дані літератури щодо цього питання свідчать про суттєві відмінності структури опортуністичних нейроінфекцій в різних країнах світу. В ряді досліджень попередніх років були здійснені спроби визначити фактори, які обумовлюють ризик розвитку опортуністичних нейроінфекцій у ВІЛ-інфікованих, зокрема аналізувалися демографічні фактори, шляхи інфікування тощо. В сучасних дослідженнях значна увага приділяється вивченню генетичних особливостей організму, які впливають на розвиток та прогресування ВІЛ-

інфекції. Однак, на сьогодні бракує даних про вплив генетичних факторів на ризик виникнення ВІЛ-асоційованих неврологічних уражень. При цьому особливий інтерес представляє дослідження предикторних можливостей поліморфізму HLA-DRB1. Одним з напрямів дисертаційного дослідження Литвин К.Ю. є саме визначення певних генетичних предикторів розвитку нейроінфекцій у ВІЛ-інфікованих, що є актуальним та своєчасним.

Опортуністичні інфекції ЦНС на сьогодні є одним з головних факторів ризику смертності хворих зі СНІД. Тому актуальним є не лише пошук ефективних предикторів для прогнозування їх розвитку, алей й детальний аналіз різних характеристик інфекційних уражень ЦНС та їх наслідків, поглиблення уявлень про механізми нейропатогенезу цих станів. Патологічна дія вірусу імунодефіциту людини спрямована як на клітини імунної системи, зокрема, CD4+ Т-лімфоцити, так і на нервову систему, але при цьому дискутується прямий або опосередкований шлях його впливу. В медичній літературі наводяться патологічні зміни, що відбуваються в тканині мозку при ураженнях, зумовлених ВІЛ та опортуністичними нейроінфекціями, але недостатньо вивчені морфологічні характеристики, які б змогли пояснити спільність клінічних проявів при різних за етіологією захворюваннях ЦНС. Саме тому, велика увага науковців приділяється пошуку маркерів нейропатогенезу ВІЛ та предикторів розвитку і прогресування ВІЛ-асоційованих уражень ЦНС. Дані літератури свідчать про асоціацію нейропатологічної дії ВІЛ з втратою кортикальних нейронів, дендритними та синаптичними ураженнями, демієлінізацією. Тому перспективним представляється визначення основного білка мієліну (ОБМ) як маркера деструктивних процесів у головному мозку, а також таких біомаркерів як β 2-мікроглобулін та ІФН- γ . Поглиблення уявлень щодо морфо-функціональних змін мозку у ВІЛ-інфікованих в подальшому надасть можливість індивідуалізації терапії. Тому дисертаційна робота Литвин К.Ю., яка присвячена проблемі удосконалення діагностики, прогнозування перебігу, індивідуалізації підходів до профілактичних заходів і лікування для пацієнтів з ВІЛ-асоційованими інфекційними ураженнями головного мозку на підставі комплексного аналізу та

співставлення демографічних, клініко-імунологічних особливостей з маркерами запалення, нейродеструкції та вірусної реплікації є актуальною та своєчасною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом трьох комплексних науково-дослідних робіт кафедри інфекційних хвороб ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: «Імунохімічні ко-фактори та генетичні предиктори розвитку хвороб, асоційованих з персистуючими та латентними інфекціями» 2011-2014 рр., № державної реєстрації 0110U0006145, «Імуногенетичні предиктори розвитку хвороб, асоційованих з латентними інфекціями у дорослих та дітей» 2015-2017 рр., № державної реєстрації 0115U001214, «Епігенетичні фактори виникнення хвороб, що асоціюються з персистуючими інфекціями у дітей та дорослих» 2018-2021 рр., № державної реєстрації 0117 U 004785. Дисертантка була співвиконавцем роботи і відповідала за розділ, присвячений вивченню опортуністичних захворювань при ВІЛ-інфекції.

Наукова новизна одержаних результатів.

Результати, що отримані при виконанні дисертаційної роботи Литвин К.Ю. мають наукову новизну, а саме вперше за результатами генотипування HLA-DRB1 показано, що в носіїв алелей DRB1*11, DRB1*03 і DRB1*16 вищі шанси захворювання на ВІЛ-інфекцію, ніж у інших осіб у популяції в 3,06; 2,90 і 2,42 рази відповідно, та вперше визначено збільшення частоти розвитку ВІЛ-асоційованих неврологічних захворювань у носіїв алеля DRB1*01 (38,7 % проти 15,4 %) та алеля DRB1*16 (32,3 % проти 17,9 %) порівняно з іншими захворюваннями. Вперше показано, що поліморфізм HLA-DRB1 впливає на розвиток токсоплазмозу та туберкульозу, що підтверджується значно меншим ризиком розвитку токсоплазмозу, ніж туберкульозу, у ВІЛ-позитивних пацієнтів з DRB1*13 (OR=0,09) та більшим ризиком токсоплазмозу в носіїв DRB1*16 (OR=6,40). Доповнено наукові дані щодо асоціацій поліморфізму гена HLA-DRB1 з прогресуванням ВІЛ-інфекції, свідченням чого є визначений зв'язок повільного

розвитку ВІЛ-інфекції з наявністю алелей DRB1*01 ($rs=+0,29$) та DRB1*07 ($rs=+0,27$), а швидкого розвитку ВІЛ-інфекції – з варіантом DRB1*15 ($rs=-0,28$).

Вперше за результатами тестування з використанням короткої шкали оцінки психічного статусу (MMSE) та тесту «малювання годинника» встановлено наявність когнітивної дисфункції у ВІЛ-інфікованих пацієнтів амбулаторної групи без неврологічних симптомів, що підтверджується погіршенням результатів виконання MMSE у 43,1 % пацієнтів та тесту «малювання годинника» – у 26,3 %. Доповнено наукові дані про нейротоксичний ефект ефавірензу, що підтверджується збільшенням частоти порушень ментального статусу за результатами тестів MMSE та «малювання годинника» у 2,6 і 3,5 рази порівняно з пацієнтами, які приймали інші препарати. Вперше показано, що погіршення результатів тестування MMSE пов'язане з низьким сумарним індексом ефективності проникнення препаратів у ЦНС (≤ 7 балів за S. Letendre et al. (2008,2014); M. Robbins et al. (2016), що підтверджується наявністю прямого вірогідного зв'язку між ними – $rs=+0,23$.

Уточнено наукові дані про вплив на прогноз ВІЛ-асоційованих уражень ЦНС демографічних, анамнестичних та клініко-лабораторних факторів, що підтверджується збільшенням шансів летального наслідку в осіб чоловічої статі в 1,74 рази; при пізньому встановленні ВІЛ-статусу – у 1,16 рази; при відсутності АРТ – у 6,36 рази; при початковому рівні CD4+Т-лімфоцитів < 50 клітин/мкл – у 2,23 рази; при коморбідності ураження ЦНС – у 2,67 рази.

Доповнено наукові дані про особливості ВІЛ-асоційованих захворювань головного мозку у пацієнтів, старших за 50 років, які характеризуються збільшенням ризику розвитку прогресуючої мультифокальної лейкоенцефалопатії у 3,78 рази, Епштейна-Барр-енцефалітів – у 2,2 рази й більшою частотою розвитку когнітивних порушень на тлі прийому АРТ (58,3 % проти 25,3 %), порівняно з більш молодими хворими.

Доповнено наукові дані, що кількісний вміст ВІЛ РНК у СМР та плазмі має маркерне значення при несприятливому перебігу ураження нервової системи, що підтверджується збільшенням шансів летального наслідку в 4,3 рази при

зростанні рівня ВІЛ РНК понад 5,1 Lg копій/мл у СМР та у 7,1 разів при такому ж вірусному навантаженні в крові.

Дисертанткою уточнено наукові дані щодо предикторної ролі β 2-МГ, ІФН- γ та ОБМ у плазмі крові та СМР у розвитку і перебігу захворювання, що підтверджується зростанням вмісту β 2-МГ в крові від 8,0 мкг/мл при 1-2 стадії до 9,5 мкг/мл при 4 клінічній стадії ВІЛ-інфекції та 10,1 мкг/мл при розвитку неврологічних захворювань; у 2,9 рази більшим вмістом ОБМ у СМР при несприятливому наслідку, ніж при покращенні стану, утрічі більшим середнім рівнем ІФН- γ в померлих пацієнтів, ніж у тих, хто вижив.

Вперше запропоновані алгоритми комплексного використання цих маркерів разом з демографічними, імунологічними, загальними гематологічними показниками, вірусним навантаженням ВІЛ РНК у СМР та варіантами алелей HLA-DRB1 для ранньої діагностики і прогнозування перебігу ВІЛ-асоційованих уражень головного мозку.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати проведеного комплексного дослідження стали підставою для:

- підвищення інформованості спеціалістів, що займаються організацією і наданням медичної допомоги хворим на ВІЛ/ СНІД, про особливості розвитку і перебігу ВІЛ-асоційованих інфекційних захворювань ЦНС, для обліку, прогнозування та розрахунку потреб для госпіталізації та лікування пацієнтів, а також для покращання діагностики і профілактики опортуністичних інфекцій;
- обґрунтування доцільності проведення дослідження ментального статусу пацієнтів на етапі амбулаторного спостереження із залученням психоневрологів для оцінки ранніх порушень психічного статусу й вибору адекватної схеми АРТ із сумарним індексом ефективності проникнення препаратів у ЦНС, що дорівнює 8 балам (за S. Letendre);
- обґрунтування доцільності визначення у СМР пацієнтів з ВІЛ-асоційованими ураженнями головного мозку рівнів ВІЛ РНК, ОБМ та ІФН- γ як маркерів важкого перебігу захворювання з можливим летальним наслідком;

- створення й запровадження в практичну діяльність діагностично-прогностичних алгоритмів для визначення ризику розвитку й перебігу неврологічних захворювань у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією, які передбачають, крім визначення загальноклінічних гематологічних та імунологічних показників, дослідження поліморфізму алелей DRB1 системи HLA, β 2-мікроглобуліну в крові, вмісту основного білка мієліну та ІФН- γ в СМР з урахуванням статі пацієнта та терміну взяття під нагляд з приводу виявлення ВІЛ. Розроблені математичні моделі прогнозування, підтверджені 3 Державними патентами України на корисну модель (№ 127448, № 129488, № 129489), є зручними, клінічно адаптованими та забезпечують високі показники прогностичної ефективності.

Результати дисертаційної роботи Литвин К.Ю. впроваджені в клінічну практику відділень КЗ «Дніпропетровська міська клінічна лікарня № 21 ім. проф. Є.Г. Попкової ДОР», Дніпропетровського обласного центру з профілактики та боротьби зі СНІДом, КНП ХОР «Обласна клінічна інфекційна лікарня м. Харкова», Івано-Франківської обласної клінічної інфекційної лікарні, КП «Полтавська обласна інфекційна лікарня Полтавської обласної ради».

Теоретичні положення роботи втілені в лекційний курс і практичні заняття кафедри інфекційних хвороб ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Івано-Франківського національного медичного університету, Харківського національного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Оцінка змісту дисертації.

Дисертаційна робота викладена державною мовою на 384 сторінках, з яких основний текст займає 288 сторінок, і складається зі вступу, огляду літератури, загальної методики і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, обговорення та узагальнення отриманих результатів, висновків та практичних рекомендацій, списку джерел (із них кирилицею – 133, латиницею – 302). Роботу ілюстровано 59 таблицями, 48 рисунками.

У вступі дисертантка обґрунтовує актуальність теми дисертаційної роботи, вказує новизну і практичне значення. Чітко сформульовані актуальність, визначено напрямок власного дослідження, сформульовані мета і завдання дослідження. Всі підрозділи вступу оформлені згідно вимог.

Розділ 1 “Сучасні аспекти епідеміології, патогенезу і лікування ВІЛ-інфекції та ВІЛ-асоційованих захворювань центральної нервової системи” є оглядом літератури.

В розділі наведена епідеміологічна характеристика ВІЛ-інфекції в світі та в Україні. Показано, що за даними UNAIDS/ BOO3 у 2017 році, кількість людей, які живуть з ВІЛ збільшилася на 14%, порівняно з 2010 році, проте є суттєва різниця в динаміці щорічних нових випадків ВІЛ та смертності від ВІЛ інфекції у різних регіонах світу. Продемонстровано, що значна кількість випадків СНІДу на Сході Європи говорить про серйозність проблеми, пов'язану з пізньою діагностикою ВІЛ, затримкою початку лікування та з низьким охопленням АРТ. Виявлення ВІЛ-інфекції у більш ніж половини пацієнтів в Європі є пізнім: при кількості СД4+Т-лімфоцитів (ТЛ) < 350 кл/мкл, у 30 % з них - рівень імуносупресії нижче 200 кл/мкл. До того ж, значне переважання статевого шляху передачі інфекції - 74 % проти 26 % серед людей, які вживають ін'єкційно наркотики, є тривожним індикатором зростання чисельності жінок в епідемічному процесі. Зазначене вище обумовлює необхідність пошуку способів прогнозування та ранньої діагностики цих захворювань.

В окремому підрозділі наведена епідеміологічна характеристика СНІД-індикаторних захворювань в світі та в Україні. Показано, що у країнах Східної Європи кількість нових випадків СНІД та смертей від хвороб, обумовлених СНІД зростає, а найвищі показники серед країн Східної Європи визначаються в Україні (20,8). Дніпропетровська область має один з найвищих рівнів захворюваності на ВІЛ-інфекцію в Україні - 110,5 на 100 тис., займаючи 2 місце після Одеської (113,5 на 100 тис.), що обумовлює особливу актуальність проблеми ВІЛ/СНІДу в регіоні. Розповсюдженість опортуністичних інфекцій також має значні особливості залежно від регіону та поширеності ВІЛ/СНІД.

Проведений аналіз літературних даних щодо уражень головного мозку як СНІД-індикаторної патології, яка за різними даними, з часом розвиваються, в 40-70 % випадків, та значно збільшує ризик смертності. Дисертанткою ретельно проаналізовані літературні дані щодо імунопатогенезу, клінічних проявів, морфологічних змін та певних особливостей діагностики нейроінфекцій різної етіології (туберкульозної, токсоплазмозної, Епштейна-Барр-вірусної, мікозної, СНІД-деменції) у ВІЛ-інфікованих. Показані невирішені питання, зокрема дуже обмежені дані щодо ризиків захворюваності та виживання ВІЛ-інфікованих пацієнтів з патологією ЦНС.

В огляді літератури продемонстровані й демографічні аспекти ВІЛ-асоційованих уражень головного мозку. Актуальність цього питання пов'язана зі старінням населення як глобальною медико-соціальною проблемою в багатьох країнах світу. Це пояснює зростання кількості людей, що живуть з ВІЛ, віком від 50 років і старше, які часто мають когнітивні порушення неінфекційного генезу, а ВІЛ-інфекція у цих хворих має прогресуючий перебіг та є фактором ризику розвитку ВІЛ-асоційованих когнітивних порушень, що призводить до пізньої діагностики СНІДу.

Окремий підрозділ присвячений аналізу клініко-діагностичного значення визначення біохімічних компонентів спинномозкової рідини, взаємозв'язків з показниками імунологічного статусу та вірусного навантаження, який дозволив дисертантці обґрунтувати вибір певних біомаркерів при виконанні дисертаційного дослідження.

Підрозділ 1.7 присвячений аналізу АРТ, а саме ефективності її при лікуванні пацієнтів з ВІЛ-асоційованими нейроінфекціями. Показано, що, не зважаючи на успішне пригнічення реплікації вірусу в плазмі при використанні АРТ, ВІЛ може реплікуватись у СМР з розвитком резистентності та формуванням гострих або підгострих неврологічних проявів, що певною мірою пояснюється різним ступенем проникненості препаратів через ГЕБ. Однак дані літератури щодо впливу ступеню проникнення препаратів АРТ через ГЕБ на нейрокогнітивні порушення є суперечливими та потребують вивчення.

Підрозділ 1.8 присвячений аналізу літератури щодо клінічного значення головного комплексу тканинної сумісності у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією. Показана доцільність визначення предикторних можливостей HLA-DRB1 (генів II класу HLA) відносно розвитку ВІЛ-інфекції, ризику прогресування захворювання. Пошук генетичних маркерів, які б дозволили прогнозувати ризик виникнення у ВІЛ-інфікованих пацієнтів нейроінфекцій різної етіології потребує на сьогодні проведення досліджень.

Огляд літератури завершується резюме, в якому акцентовано на невирішених питання та обґрунтовано напрямок дисертаційного дослідження.

Розділ 2 “Характеристика когорти спостереження і методи дослідження” дає чітку уяву про дизайн дослідження, критерії включення й виключення з дослідження, критерії постановки діагнозу ВІЛ-інфекції та верифікації ВІЛ-асоційованих інфекційних уражень головного мозку. В цьому розділі наведена загальна характеристика клінічних груп хворих, які включені в дослідження. Описані методи, які були застосовані при обстеженні хворих, а саме клінічні, біохімічні, імуноферментні, молекулярно-біологічні, морфологічні, інструментальні, тестові для оцінки ментального статусу, статистичні. Всі спеціальні методи дослідження проведені у сертифікованих лабораторіях.

Слід зазначити, що дисертаційна робота Литвин К.Ю. забезпечена достатньою кількістю пацієнтів, включених в дослідження, виконана на високому науково-методичному рівні із застосуванням сучасних методів досліджень, а також сучасних статистичних методів при аналізі отриманих даних.

Розділ 3 “Характеристика ВІЛ-асоційованих інфекційних уражень головного мозку”. В розділі 3 за результатами аналізу епідеміологічних, демографічних та лабораторних характеристик пацієнтів Дніпропетровської області з ВІЛ-асоційованими захворюваннями головного мозку продемонстровано їх значну розповсюдженість серед пацієнтів з імуносупресією, що відповідає високій кількості захворювань на СНІД в регіоні та в Україні.

Доведено, що летальність серед госпіталізованих ВІЛ-інфікованих з ознаками уражень головного мозку складає 42,4 %, а ризик летального наслідку від захворювань ЦНС у ВІЛ-позитивних хворих вище у чоловіків (OR=1,74; 95% CI 1,18-2,56) при пізньому встановленні ВІЛ-статусу (OR=1,16; 95% CI 1,10-1,22) і відсутності АРТ (OR=6,36; 95% CI 4,04-10,01).

Продемонстровано відмінності лабораторних показників у пацієнтів з ВІЛ-асоційованими захворюваннями ЦНС залежно від наслідків захворювання: 52,5 % хворих, у яких рівень CD4+ клітин не перевищував 50 клітин/мкл, мають в 2,23 рази вищу ймовірність летального наслідку (95% CI 1,50-3,32) ($p < 0,001$ FET). Більш високе ВН також відзначалось у померлих пацієнтів – 5,65 (IQR 5,15-6,05) Lg коп/мл проти 4,76 (IQR 1,60-5,49) Lg коп/мл ($p < 0,001$ U). Знайдені відмінності між середнім вмістом білка та глюкози в СМР пацієнтів, які померли внаслідок захворювання та тих, хто вижив, відповідно ($p = 0,066$ t та $p = 0,016$ t).

В ході дослідження ретельно проаналізована етіологічна структура та виявлені найбільш розповсюджені опортуністичні нейроінфекції: туберкульоз нервової системи (37,3 %), церебральний токсоплазмоз (29,9 %), грибкові ураження ЦНС, у т.ч. криптококоз, кандидоз та неуточнені дріжджоподібні мікотичні інфекції (17,1 %), енцефаліти, зумовлені Епштейна-Барр вірусом (10,6 %). Подібна структура є характерною для країн з низьким економічним рівнем та високим показником захворюваності на ВІЛ-інфекцію. Серед інфекцій ЦНС, пов'язаних із розвитком ЗСВІС, найчастіше діагностувались туберкульоз та токсоплазмоз.

Визначені вікові особливості ВІЛ-асоційованих захворювань ЦНС у пацієнтів старше 50 років: переважання статевого шляху інфікування, менший відсоток охоплення АРТ за рахунок пізнього діагностування ВІЛ, більш високий рівень ВІЛ РНК при відсутності статистично значущих імунологічних відмінностей, значний ризик розвитку прогресуючої мультифокальної лейкоенцефалопатії, ЕБВ-енцефалітів та важких когнітивних розладів, що обґрунтовує необхідність індивідуалізації тактики ведення цих пацієнтів.

Аналіз клінічних проявів різних за етіологією уражень центральної нервової системи показав їх неспецифічність у більшості випадків та визначив необхідність проведення морфологічного дослідження змін субстрату мозку для визначення клінічних паралелей. Виявлена асоціація несприятливого прогнозу захворювання з такими клінічними ознаками, як підвищення температури тіла $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$, порушення свідомості, позитивні менінгеальні симптоми та судоми, може спостерігатись також у осіб без імуносупресії та потребує подальшого аналізу.

При аналізі проведення АРТ пацієнтам з опортуністичними нейроінфекціями встановлено наявність кореляційних зав'язків між ступенем когнітивних порушень та тривалістю АРТ.

Розділ 3 добре ілюстрований рисунками, містить зразки комп'ютерної томографії пацієнтів, представлення результатів дослідження в табличному вигляді, завершується резюме, в якому узагальнені основні результати. За матеріалами цього розділу опубліковано 23 наукові праці.

Розділ 4 “Морфологічні характеристики уражень головного мозку у пацієнтів з ВІЛ-асоційованими неврологічними захворюваннями”. В цьому розділі дисертанткою проаналізовано структуру летальних випадків серед пацієнтів з ВІЛ-асоційованими ураженнями мозку. Показано, що переважав туберкульоз ЦНС (64,4 %), церебральний токсоплазмоз (15,2 %), грибові ураження ЦНС (20,9 %) та їх комбінації (29,3 %). Морфологічне дослідження тканини головного мозку померлих пацієнтів показало одночасну зі специфічними для діагностики опортуністичних інфекцій (туберкульозу, токсоплазмозу, криптококозу) змінами, наявність множинних спільних ознак, які могли бути пов'язані з впливом ВІЛ та/або ко-факторів. Серед цих ознак переважав набряк тканини мозку: ядерний тигроліз великих нейронів, процеси втрати нейронів, демієлінізація; васкуліти та мали ознаки асептичного підгострого енцефаліту, що може свідчити про комбінований нейропатологічний вплив опортуністичної інфекції та ВІЛ, а також пояснювати неспецифічність клінічних та рентгенологічних проявів при різних за етіологією захворюваннях ЦНС у ВІЛ-інфікованих пацієнтів.

Розділ 4 добре ілюстрований оригінальними мікрофотографіями морфологічного дослідження автопсійного матеріалу, діаграмами, завершується резюме, в якому узагальнені основні результати. За матеріалами цього розділу опубліковано 2 наукові праці.

Розділ 5 “Імуногенетичні механізми розвитку ВІЛ-асоційованих інфекційних уражень головного мозку”. Результати дослідження варіантів алелей гену HLA-DRB1 II класу у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією 4 клінічної стадії показали високий шанс захворювання на ВІЛ-інфекцію носіїв варіанту алелі DRB1*11 ($p < 0,001$) (порівняно з ВІЛ негативними жителями регіону). До групи підвищеного ризику розвитку та прогресування ВІЛ-інфекції також увійшли пацієнти з варіантами алелей DRB1*03 і DRB1*16. Встановлено, що більш низька кількість CD4+ТЛ в період розвитку 4 клінічної стадії ВІЛ була пов’язана з DRB1*11 ($r_s = -0,27$; $p < 0,05$), а прогресуюча реплікація вірусу асоціювалась з наявністю алелі DRB1*03 ($r_s = +0,42$; $p < 0,001$). Ризик летального наслідку серед пацієнтів з 4 клінічною стадією ВІЛ збільшувався при наявності алеля DRB1*12 ($r_s = +0,33$; $p < 0,01$).

Визначено, що серед хворих з ВІЛ-асоційованими захворюваннями ЦНС ($n=31$) носіїв алеля DRB1*01 було більше ніж при інших опортуністичних захворюваннях ($n=39$): 38,7 % проти 15,4 % ($p=0,032$ FET). Низький ризик токсоплазмозу серед ВІЛ-позитивних пацієнтів з алелем DRB1*13 порівняно з іншими опортуністичними захворюваннями, насамперед з туберкульозом ($r_s = -0,26$; $p < 0,05$), свідчить про протекторні можливості даного алельного варіанту відносно токсоплазмозу. Навпаки, наявність DRB1*16 значно збільшує ризик токсоплазмозу (OR=6,40 (95% CI 1,19-34,29); $p=0,032$ FET порівняно з туберкульозом). Відповідно, менший ризик розвитку туберкульозу, ніж токсоплазмозу ($p=0,032$ FET) та інших захворювань ($p=0,058$ FET) визначений у ВІЛ інфікованих пацієнтів з 4-ю клінічною стадією та наявністю алеля DRB1*16.

Аналіз генотипів серед пацієнтів залежно від статі показав наявність вірогідних асоціацій з токсоплазмозом у жінок з DRB1*16 (53,8 %; $p=0,001$ FET).

Результати дослідження, що наведені в цьому розділі, доводять доцільність оцінки поліморфізму алелей гену DRB1 у ВІЛ-інфікованих як для прогнозування перебігу ВІЛ-інфекції та визначення шансів розвитку опортуністичних інфекцій, зокрема, туберкульозу і токсоплазмозу.

Розділ 5 добре табличним матеріалом, завершується резюме, в якому узагальнені основні результати. За матеріалами цього розділу опубліковано 6 наукових праць.

Розділ 6 “Клініко-патогенетичне значення вірусного навантаження ВІЛ РНК та маркерів запалення і нейродеструкції у ВІЛ-інфікованих пацієнтів з неврологічними захворюваннями”.

В розділі 6 представлені результати дослідження взаємозв'язків показників вірусного навантаження, основного білку мієліну, β 2-мікроглобуліну та інтерферону -гамма у спинномозковій рідині та в плазмі крові у пацієнтів з ВІЛ-асоційованими неврологічними захворюваннями. Слід зазначити сучасний рівень статистичної обробки отриманих даних, зокрема застосування ROC-аналізу, що дало змогу дисертантці отримати статистично значущі прогностичні параметри.

Визначено, що шанси летального наслідку при значеннях вірусного навантаження ВІЛ РНК понад $5,1 \text{ Lg коп/мл}$ у СМР зростають в 4,26 рази (95 % СІ 1,15-15,73), у крові – в 7,09 рази (95% СІ 1,22-41,13). Найвищий рівень ВІЛ РНК в СМР визначений у пацієнтів з туберкульозним ураженням ЦНС ($p=0,048 \text{ U}$).

Аналіз вмісту основного білка мієліну (ОБМ) в СМР при ВІЛ-асоційованих неврологічних захворюваннях показав значне підвищення його концентрації – в 3,2 рази (Ме 1,90 (1,10-4,35 нг/мл) вище середнього показника групи порівняння (0,60 (0,24-0,70 нг/мл) з $p<0,001$. Встановлений зв'язок підвищення рівня ОБМ з пізнім визначенням ВІЛ-статусу та високим рівнем вірусного навантаження у СМР, що пояснює тяжкість захворювання та його летальний наслідок. Медіана показника у померлих пацієнтів в 2,9 рази перевищувала аналогічний показник у хворих, які вижили – 4,00 (1,90-7,70) нг/мл проти 1,40 (0,99-2,00) нг/мл ($p=0,002$),

що свідчить про значні деструктивні зміни у нервовій системі при важкому перебігу захворювання.

Дослідження $\beta 2$ -МГ виявило збільшення рівня при прогресуванні ВІЛ-інфекції – від 8,0 (6,3-9,0) мкг/мл при 1-2 стадії до 8,75 (7,1-9,5) мкг/мл при 3 стадії ($p < 0,05$) і 9,0 (8,2-9,5) мкг/мл при 4 клінічній стадії ВІЛ ($p < 0,001$ і $p < 0,05$ порівняно з 1-2 та 3 стадією). При 4 клінічній стадії ВІЛ-інфекції рівень $\beta 2$ -МГ прямо корелював з показником ВН РНК ВІЛ ($r_s = +0,23$; $p < 0,05$). Аналіз кількісного вмісту $\beta 2$ -МГ у крові та СМР хворих з опортуністичними інфекціями ЦНС показав суттєве перевищення показника при всіх захворюваннях. Встановлено, що зміни $\beta 2$ -МГ у СМР хворих з ВІЛ-асоційованими захворюваннями ЦНС мали прямий зв'язок із вірусним навантаженням РНК ВІЛ у лікворі ($r = +0,38$; $p < 0,01$), а також з концентрацією означеного біомаркери в крові ($r_s = +0,44$; $p < 0,01$), що дозволило побудувати рівняння лінійної регресії: $\beta 2$ -МГ (СМР) = $2,298 + 0,5786 * \beta 2$ -МГ (кров) з $p = 0,002$ (за F-критерієм Фішера), яке дозволяє розраховувати концентрацію $\beta 2$ -МГ у СМР за конкретними значеннями показника $\beta 2$ -МГ у крові пацієнта, що є більш доступним і важливим у випадках неможливості (з різних причин) проведення люмбальної пункції.

Ще одним інформативним діагностичним та прогностичним показником, за результатами дослідження, виявився вміст ІФН-гамма в СМР та крові пацієнтів з ВІЛ-асоційованими ураженнями головного мозку. Висока імовірність розвитку церебрального туберкульозу прогнозується при підвищенні концентрації ІФН- γ у СМР до 9,5 пг/мл і вище ($p = 0,002$), з показниками чутливості тесту 66,7 %, специфічності – 90,9 %, діагностичної точності – 83,3 %. Встановлено прямі взаємозв'язки між вмістом ІФН- γ у СМР і вірусним навантаженням ВІЛ РНК, як у СМР ($r_s = +0,50$; $p < 0,001$), так і в крові ($r_s = +0,46$; $p < 0,01$) хворих з ВІЛ-асоційованими захворюваннями ЦНС. Встановлено високий ризик летального наслідку ВІЛ-інфекції при концентрації ІФН- γ у спинномозковій рідині понад 4,0 пг/мл ($p < 0,001$), за рахунок зростання в 16,2 рази шансів летального наслідку ВІЛ-інфекції з розвитком опортуністичних нейроінфекцій ($p < 0,001$).

Розділ 6 добре ілюстрований табличним матеріалом, завершується резюме, в якому узагальнені основні результати. За матеріалами цього розділу опубліковано 10 наукових праць.

Розділ 7 “Прогнозування розвитку і перебігу ВІЛ-асоційованих уражень ЦНС за показниками вірусного навантаження ВІЛ РНК, гематологічних та імунологічних порушень, маркерів запалення і нейродеструкції”.

В цьому розділі доведена прогностична значущість показників периферійної крові (рівні гемоглобіну, лейкоцитів, тромбоцитів, β 2-МГ, абсолютної кількості ТЛ і ТЛХ, РНК ВІЛ) для оцінки ризику розвитку інфекційних уражень головного мозку у хворих з ВІЛ-інфекцією.

Створений з урахуванням цих факторів алгоритм раннього прогнозування демонструє високі показники чутливості (87,2 %), специфічності (86,8 %) та точності прогнозу (87,0 %), дозволяє оцінити індивідуальний ризик, виявити пацієнтів з несприятливим прогнозом для проведення профілактичних і лікувальних заходів.

Підвищений ризик несприятливого перебігу ВІЛ-асоційованої інфекції ЦНС за результатами ROC-аналізу прогнозується при концентрації основного білка мієліну у СМР понад 2 нг/мл ($p=0,002$), що забезпечує чутливість тесту 68,4 %, специфічність – 75,9 %, точність – 72,9 %. Прогностична цінність ОБМ_с при комплексному використанні разом з вірусним навантаженням ВІЛ РНК у СМР, урахуванням віку пацієнта та тривалості періоду від первинної детекції ВІЛ до маніфестації неврологічних захворювань. На підставі цих найбільш значущих параметрів створена математична модель прогнозування із чутливістю – 84,2 %, специфічністю – 82,8 %, точність прогнозу – 83,3 %.

Ще одним перспективним прогностичним маркером виявився інтерферон- γ . Високий ризик несприятливого перебігу ВІЛ-асоційованої інфекції ЦНС прогнозується при концентрації ІФН- γ у спинномозковій рідині понад 4,0 пг/мл ($p<0,001$), що забезпечує чутливість тесту 89,5 %, специфічність – 65,5 %, точність – 75,0 %.

Враховуючи отримані дані, дисертанткою побудована ще одна багатофакторна модель, яка враховує дані про стать пацієнта, тривалість періоду від виявлення ВІЛ до неврологічних проявів, дані дослідження в спинномозковій рідині експресії ОБМ та гамма-ІФН, що значно підвищило показники ефективності методу прогнозування ризику смертності: чутливість – 86,2 %, специфічність – 89,5 %, прогностична точність – 87,5 %. Враховуючи, високу летальність пацієнтів з ВІЛ, часто обумовлену розвитком неврологічних уражень, запропоновані математичні моделі здатні допомогти у вирішенні проблеми прогнозування та обґрунтуванні обсягів своєчасної медичної допомоги.

Прогностичну цінність щодо виявлення схильності ВІЛ-позитивних осіб до розвитку неврологічної патології мають алельні варіанти генів DRB1*01 і DRB1*16 та їх асоціації з імунологічними (рівень CD4+ТЛ у крові < 80 клітин/мкл) та клініко-анамнестичними характеристиками (тривалість періоду від первинної детекції ВІЛ до переходу захворювання у 4 стадію менше 1 року). Створений математичний алгоритм дозволяє прогнозувати ризик ВІЛ-асоційованого ураження ЦНС з прогностичною точністю 78,6 %, чутливістю – 64,5 %, специфічністю – 89,7 %.

В даному розділі наведені клінічні приклади застосування запропонованих математичних моделей, які доводять їх високу інформативність. За матеріалами цього розділу опубліковано 7 наукових робіт.

В аналізі та узагальненні результатів дослідження дисертантка дає глибоко обґрунтований аналіз проведених досліджень, що охоплює всі розділи дисертації.

Результати дисертаційної роботи відображені у висновках, які є добре обґрунтованими, відповідають поставленим меті і завданням та змісту дисертації.

Практичні рекомендації чітко сформульовані, логічно витікають з результатів дослідження й реальні для використання.

Список використаних джерел складений правильно, згідно сучасних вимог та стандартів, містить переважно нові літературні джерела.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Матеріали дисертаційної роботи опубліковано у 47 наукових працях, в тому числі 25 статей у виданнях, що входять до переліку наукових фахових видань, з них: 1 - включена до Web of Science Core Collection; 19 - включені до профільних міжнародних наукометричних баз даних (окрім Web of Science Core Collection та Scopus), у тому числі 2 статті у зарубіжних фахових виданнях; 17 тез - у матеріалах всеукраїнських та міжнародних конгресів, з'їздів, науково-практичних конференцій, 3 деклараційних патенти на корисну модель, 1 впровадження до реєстру галузевих нововведень, 1 інформаційний лист.

Основні положення дисертаційної роботи обговорювалися та викладені на Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю: «Нейроінфекції у практиці клініциста. Проблеми діагностики та лікування» (Харків, 2011); «Актуальні інфекційні захворювання. Клініка. Діагностика. Лікування» (Київ, 2011); «Природно-осередкові інфекції» (Ужгород, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні інфекційні захворювання. Клініка. Діагностика. Лікування. Профілактика» (Київ, 2012); «Інноваційні підходи до діагностики та лікування сучасних інфекційних хвороб» (Київ, 2013); «Фармакотерапія інфекційних захворювань» (Київ, 2013); «Актуальні інфекційні захворювання. Клініка. Діагностика. Лікування. Профілактика» (Київ, 2013); «Актуальні проблеми парентеральних інфекцій» (Харків, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні інфекційні захворювання. Клініка. Діагностика. Лікування та профілактика» (Київ, 2014); «Інфекційні хвороби у загальній практиці і сімейній медицині» (Чернігів, 2014); науково-практичній конференції «Фармакотерапія інфекційних захворювань» (Київ, 2014); «Від науки до практики» (Дніпропетровськ, 2014); Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції інфекціоністів «Фармакотерапія і профілактика інфекційних та паразитарних хвороб» (Харків, 2014); IX з'їзді інфекціоністів України «Інфекційні хвороби: поступи і проблеми в діагностиці, терапії та профілактиці» (Тернопіль, 2015); 1st Central and Eastern European Meeting on Viral Hepatitis and Co-Infection

with HIV (Варшава, Польща, 2015); Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю: «Фармакотерапія інфекційних захворювань» (Київ, 2015); «Актуальні інфекційні захворювання. Клініка. Діагностика. Лікування. Профілактика» (Київ, 2015); «Мечніковські читання – 2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій» (Харків, 2016); III національній конференції «За кожне життя разом: прискорення до мети 90-90-90» (Київ, 2016); Міжнародній конференції «Healthy Living with HIV/22-23» (Барселона, Іспанія, 2016); науково-практичних конференціях «Від науки до практики» (Дніпро, 2017); «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у сучасних умовах» (Житомир, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична допомога інфекційним хворим в умовах реформування галузі охорони здоров'я» (Черкаси, 2017); «Коморбідні стани – міждисциплінарна проблема» (Харків, 2017); Міжнародній конференції «16th European AIDS Conference in Milan» (Мілан, Італія, 2017); Всеукраїнських науково-практичних конференціях «Кров'яні інфекції як загальнодержавна проблема» (Луцьк, 2018); «Сучасні діагностичні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста» (Чернівці, 2018).

Автореферат повністю відповідає змісту дисертації, віддзеркалює основні положення наукової роботи, підкреслює наукову новизну, теоретичне та практичне її значення.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.

Суттєвих зауважень до виконаної дисертації немає, крім наявності окремих неточних виразів та формулювань, поодиноких стилістичних помилок. Аналіз дисертаційної роботи та автореферату Литвин Катерини Юріївни дає підставу вважати, що задачі дослідження вирішені, а мета наукової роботи досягнута. Вказані зауваження носять виключно технічний характер, не зменшують теоретичного значення та науково-практичної цінності дисертаційної роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

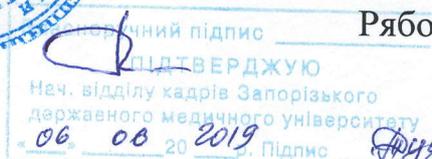
У порядку дискусії до дисертантки є наступні запитання:

1. Якими патогенетичними механізмами можна пояснити високий вміст ІФН-гамма у хворих на ВІЛ-інфекцію при розвитку опортуністичних нейроінфекцій?
2. Чи існують певні відмінності показників визначених Вами біомаркерів в СМР та крові пацієнтів з імуносупресією та в імунокомпетентних осіб з нейроінфекцією? Якщо так, то чим це можна пояснити?
3. У якої кількості хворих на ВІЛ-інфекцію Вами було діагностовано СНІД-деменцію? Чи впливали генетичні фактори, зокрема поліморфізм HLA DRB1, на ризик її розвитку у ВІЛ-інфікованих хворих?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Литвин Катерини Юріївни на тему «ВІЛ-асоційовані інфекційні ураження головного мозку: клініко-імунологічні, морфологічні характеристики, діагностика та лікування» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук виконана під керівництвом доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри інфекційних хвороб ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» Шостакович-Корецької Людмили Романівни є самостійною, завершеною науковою працею, відповідає високому науково-методичному рівню, в якій наведені теоретичні узагальнення та нове вирішення науково-практичної проблеми. Дисертація відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 року; № 1159 від 30.12.2015 року та № 567 від 27.07.2016 р.) щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби.

Завідувач кафедри інфекційних хвороб
Запорізького державного медичного університету,
д. мед. н., професор



Рябоконт О.В.

10/08/2019