

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук профессора Гумилевского Бориса Юриевича о диссертационной работе Жиркова Антона Анатольевича «Диагностическое значение субпопуляционного состава лимфоцитов цереброспинальной жидкости и крови при менингитах у детей», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность избранной темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Жиркова Антона Анатольевича «Диагностическое значение субпопуляционного состава лимфоцитов цереброспинальной жидкости и крови при менингитах у детей» посвящена исследованию клинико-диагностической значимости лабораторных маркеров клеточного состава крови и ликвора при инфекционном поражении центральной нервной системы. Эта проблема остается актуальной для отечественного и мирового здравоохранения, поскольку такие заболевания характеризуются высоким риском терминальных исходов особенно среди детей, переносящих бактериальный гнойный менингит, где летальность в некоторых возрастных категориях может достигать 22%.

На настоящий момент для диагностики менингита проводят клиническое обследование пациента с использованием синдромального подхода и проводят лабораторное исследование, включающее клинический и биохимический анализ крови и ликвора, а также микробиологические тесты с применением классических бактериологических и молекулярно-генетических методов. Однако даже такой объем исследований не всегда дает исчерпывающую информацию, либо выявление инфекционного агента затягивается, что не позволяет вовремя начать правильную противoinфекционную терапию, а это во многих случаях является критически важным. Поэтому разработка и внедрение в клиническую практику критериев, позволяющих принять правильное клиническое решение является актуальной задачей. Одним из направлений поиска может быть углубленное исследование клеточного состава ликвора, в частности, оценка

субпопуляционного состава лимфоцитов. Учитывая, что данные современной литературы о субпопуляционном составе цереброспинальной жидкости немногочисленны, достижение поставленной в диссертационной работе цели и решение поставленных задач вносят определенный научно-практический вклад в решение актуальной проблемы дифференциальной диагностики инфекционных менингитов.

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

Автором диссертационной работы проведено исследование субпопуляционного состава лимфоцитов в крови и ликвора на выборке из 152 детей с инфекционными заболеваниями, из которых 39 – с бактериальным гнойным менингитом, 86 с серозным менингитом и 27 детей с острой респираторной вирусной инфекцией с менингизмом в качестве группы сравнения. Для характеристики клеток иммунной системы автором использован современный, наиболее подходящий метод проточной цитометрии с применением многоцветных моноклональных антител. Проведена статистическая обработка и анализ данных в сопоставлении с клиническими характеристиками, стандартными лабораторными показателями, что определяет высокую степень обоснованности представленных положений, выводов и рекомендаций. В работе Жиркова Антона Анатольевича убедительно доказано, что стандартные лабораторные показатели крови и ликвора не всегда информативны в связи с широкой областью перекрывающихся значений. Автором доказано наличие характерных особенностей субпопуляционного состава лимфоцитов крови и ликвора при менингитах у детей в зависимости от природы, стадии и тяжести заболевания, что позволяет использовать данные параметры для лабораторной диагностики менингита, контроля за ходом течения заболевания и эффективностью проводимой терапии.

Практические рекомендации касаются способа дифференциальной диагностики вирусной или бактериальной природы менингита посредством определения относительного содержания В-лимфоцитов в ликворе острого

периода. Практические рекомендации предназначены врачам-инфекционистам, врачам клинической лабораторной диагностики и биологам. Основные положения диссертации доложены на 7 российских и международных конференциях и конгрессах. По теме исследования опубликовано 3 статьи в отечественных журналах, рекомендованных высшей аттестационной комиссией, получен патент на изобретение «Способ дифференциальной диагностики менингитов у детей».

Достоверность и новизна работы

Достоверность полученных в исследовании результатов обусловлена репрезентативной выборкой и применением адекватных методов статистической обработки данных.

Автором впервые охарактеризован субпопуляционный состав лимфоцитов ликвора детей, переносящих острую респираторную вирусную инфекцию с менингизмом (контрольная группа), выявлена его зависимость от возраста.

Впервые охарактеризован субпопуляционный состав лимфоцитов цереброспинальной жидкости и крови детей при серозном и бактериальном гнойном менингите в динамике заболевания, в зависимости от тяжести, а также выявлены наиболее информативные субпопуляции для дифференциальной диагностики вирусного и бактериального менингита.

Расчёт соотношения лимфоцитов ликвора и крови в обследованных группах пациентов позволил выявить субпопуляции, изменения которых характерны для интратекального и системного адаптивного иммунного ответа при вирусных серозных и бактериальных гнойных менингитах у детей.

Впервые разработан способ, позволяющий с помощью оценки содержания В-лимфоцитов в ликворе острого периода с высокой чувствительностью и специфичностью дифференцировать вирусный и бактериальный менингит.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе исследования результаты в значительной степени расширяют современное представление о иммунопатогенезе менингита. В частности, автором доказано участие основных и малых субпопуляций лимфоцитов крови и ликвора в патогенезе вирусного серозного и бактериального гнойного менингита, обнаружена взаимосвязь субпопуляционного состава лимфоцитов ликвора с тяжестью бактериального гнойного менингита. Показано, что субпопуляционный состав лимфоцитов ликвора является характерным маркером вирусного и бактериального менингита и может быть использован для эффективной диагностики заболевания. Разработанный на основе полученных данных способ дифференциальной диагностики вирусной и бактериальной природы менингитов рекомендован для широкого внедрения в клиническую практику медицинских учреждений.

Общая характеристика работы

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста, дополнена таблицами и рисунками, выполнена по классической структуре. Во введении автор фокусирует внимание на ограниченности сведений о субпопуляционном составе лимфоцитов в системном кровотоке и интратекральном пространстве при менингитах у детей и его связи с тяжестью заболевания, что обуславливает актуальность темы исследования.

Глава «Обзор литературы» посвящена современным представлениям о клеточных механизмах иммунопатогенеза менингита. Автор анализирует отечественную и зарубежную литературу по данной тематике, акцентируя внимание на разнообразии фенотипов лимфоцитов, их роли в патогенезе данного заболевания, доступной литературе по фенотипированию лимфоцитов крови и цереброспинальной жидкости в норме и при менингитах.

В главе «Материалы и методы» описана характеристика исследуемых групп детей по полу и возрасту, стандартные методы лабораторной

диагностики крови и ликвора, оптимизация метода проточной цитометрии для исследования основных и малых лимфоцитов крови и ликвора, описаны методы статистической обработки данных.

Глава «Результаты исследования» состоит из пяти подглав, в которых решаются поставленные задачи. В первой подглаве представлена клинико-лабораторная характеристика пациентов, этиологическая структура, разделение больных по степени тяжести менингита. В сравнительном аспекте проанализированы данные клинического и биохимического анализа крови и показателей стандартного анализа ликвора, отмечена их низкая эффективность в дифференциальной диагностике менингита.

Во второй подглаве диссертантом охарактеризован субпопуляционный состав основных и малых субпопуляций лимфоцитов в ликворе детей с ОРВИ с менингизмом. Показано доминирование Т-лимфоцитов при незначительном содержании В-лимфоцитов и натуральных киллеров. Проведён анализ зависимости данных показателей от возраста детей и выявлены характерные возрастные изменений, которые диссертант связывает со становлением иммунной системы мозга.

В третьей подглаве выполнен анализ изменений субпопуляционного состава лимфоцитов крови и ликвора детей с серозным вирусным и бактериальным гнойным менингитом в зависимости от сроков заболевания, этиологии и степени тяжести. Показаны характерные для каждой нозологической формы изменения субпопуляционного состава лимфоцитов в динамике. Обнаруженная взаимосвязь субпопуляционного состава лимфоцитов ликвора с тяжестью бактериального гнойного менингита может позволить рекомендовать коррекцию терапии для снижения риска развития осложнений, инвалидизации и летальных исходов.

В четвертой подглаве произведён расчёт коэффициента ЦСЖ/кровь в группе сравнения и при менингитах и проведена их сравнительная характеристика. Показаны выраженные различия в формировании системного и интратекального клеточного иммунного ответа при менингитах

в зависимости от этиологии возбудителя, что диссертант связал с особенностями проницаемости гематоэнцефалического барьера.

В пятой подглаве выполнен сравнительный анализ субпопуляционного состава лимфоцитов крови и ликвора при вирусном и бактериальном менингите и выявлены субпопуляции, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью для дифференциальной диагностики. Автором рекомендовано использование с этой целью определения относительного содержания В-лимфоцитов в ликворе.

В главе «Обсуждение» проведен анализ полученных данных, их сравнение с функциями отдельных популяций и возможным участием в патогенезе, а также проведено сопоставление с результатами отечественных и зарубежных исследований. Показано, что оценка лимфоцитарного пула с дифференциацией на субпопуляции при различных нозологических формах, включая нейроинфекции, является одним из актуальных направлений клинической лабораторной диагностики.

Выводы соответствуют поставленным задачам, отражают все наиболее важные полученные диссертантом результаты.

Практические рекомендации направлены на метод дифференциальной диагностики менингитов вирусной и бактериальной природы и могут быть использованы в инфекционных стационарах врачами клинической лабораторной диагностики, врачами-инфекционистами, биологами.

Вопросы и замечания

При оппонировании диссертации были выявлены некоторые грамматические опечатки и ошибки: так на странице 25 в таблице №2 в шестой строке для НК клеток указан фенотип $CD45^+CD3^+CD16^+CD56^+$, хотя этот набор маркеров характерен для НКТ лимфоцитов, на 51 странице в таблице №7 в четвертой строке под индексом Мо следует понимать не моноциты, а мононуклеары, такая же ошибка в таблице 8 на 53 странице. Есть общее замечание по интерпретации полученных результатов - проанализированы детально только данные в процентах клеточного состава

лейкоцитов крови и ликвора, абсолютные значения проанализированы слабо, хотя именно изменение концентрации клеток позволяет говорить о содержании субпопуляций и их динамике. Возможно, если бы автор пристальнее обратил внимание на это, то выявил еще дополнительные особенности субпопуляционного состава лимфоцитов в ликворе и крови. После прочтения работы возникли следующие вопросы:

1. Чем обусловлен выбор перечня используемых CD маркеров на лимфоцитах?
2. Что известно о цитокиновом профиле ликвора острого периода при вирусных и бактериальных инфекциях и как это коррелирует с выявленными автором изменениями субпопуляционного состава лимфоцитов в ликворе и крови?
3. Насколько значимыми были различия состава ликвора при бактериальных менингитах, вызванных разными видами бактерий?
4. Насколько быстро можно провести исследование по приведенному алгоритму дифференциальной диагностики?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе изучения текста диссертации, автореферата и публикаций считаю, что диссертационная работа Жиркова Антона Анатольевича «Диагностическое значение субпопуляционного состава лимфоцитов цереброспинальной жидкости и крови при менингитах у детей», выполненная под научным руководством доктора биологических наук Алексеевой Л.А., представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, которая содержит решение научно-практической задачи по разработке метода дифференциальной диагностики менингита вирусной и бактериальной природы, основанного на оценке относительного содержания В-лимфоцитов в ликворе острого периода заболевания, имеющей существенное значение для клинической лабораторной диагностики.

По своей актуальности, новизне, практической и теоретической значимости, методическому уровню и объёму выполненных исследований диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук в пунктах 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в действующей редакции), а её автор, Жирков Антон Анатольевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Заведующий кафедрой микробиологии
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия
имени С.М. Кирова» МО РФ
доктор медицинских наук профессор



Борис Юриевич Гумилевский

15 мая 2024 г.

194044, Санкт-Петербург, улица Академика Лебедева, 6.
Телефон: +79052251117, E-mail: gumbu@mail.ru

**Подпись доктора медицинских наук профессора Б.Ю. Гумилевского
заверяю**

Начальник отдела кадров
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия
имени С.М. Кирова» МО РФ
майор



Павел Валерьевич Миличенко