

Отзыв

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Червинца Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Ягодиной Елены Александровны на тему «Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология и 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Актуальность работы

В настоящее время при оценке этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта в литературе появляется все больше данных о вовлечении в данную патологию не только бактериальных патогенов, но и представителей герпесвирусов, а также об особенностях иммунной ответной реакции организма на эти патологические агенты, но нет ясности относительно вклада каждого из этих факторов. Как оказалось, вирусы герпеса, находящиеся в организме, могут повторно активироваться вследствие других иммуносупрессивных воздействий и, поэтому, также могут быть отнесены к факторам риска развития пародонтита. Показано, что, когда воспаление тканей пародонта находится в острой фазе, в ряде случаев происходит повторная активация вируса Эпштейна-Барра и цитомегаловируса. Опосредовано герпесвирусы через цитокиновый механизм активируют матричные металлопротеиназы и остеокласты, приводящие к деструктивным процессам в тканях пародонтального комплекса.

Таким образом, вирусы герпеса могут действовать как возбудители пародонтита или, по крайней мере, как фактор определяющий рецидив заболевания. В свою очередь, герпесвирусная инфекция, по-видимому, может быть повторно активирована некоторыми пародонтопатогенными бактериями. Синнергизм патогенного действия между некоторыми анаэробными пародонтопатогенными бактериями и герпесвирусами может играть важную

роль в возникновении и прогрессировании воспаления тканей пародонта и развитии деструктивных процессов в связочном аппарате зубного ряда. Однако до сих пор не установлено, какие виды пародонтопатогенных бактерий вступают в данный круг взаимодействий и какие виды вирусов семейства *Herpesviridae* играют приоритетную роль в развитии разных видов патологии – гингивита и пародонтита, прогнозе и степени тяжести.

Изложенное определяет необходимость в дальнейшем исследовании роли герпесвирусов при пародонтите, что приведет к оптимизации диагностики, повышению эффективности профилактики и лечения обострений заболеваний. Неопределенность в отношении инфекционных и клинических исходов деструкции пародонта побудила диссертанта найти дополнительные этиологические факторы, чтобы показать связь между несколькими компонентами: пародонтопатогенными бактериями, представителями семейства вирусов герпеса и уровнем гуморального иммунного ответа при заболеваниях пародонта.

Научная новизна результатов исследования, обоснованность научных выводов и рекомендаций

Тема представленной диссертационной работы Ягодиной Е.А. посвящена оптимизации диагностики воспалительных заболеваний пародонта, которые являются наиболее широко распространённой стоматологической патологией.

В результате проведённого исследования получены новые данные о молекулярных лабораторных маркерах, свидетельствующих об участии герпесвирусов в этиопатогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта (гингивита и хронического пародонтита), причём не только подтверждена высокая частота герпетической инфекции у больных гингивитом и хроническим пародонтитом, но и дифференцированы литическая и латентная формы герпесвирусной инфекции на основе лабораторных серологических маркеров острой фазы HSV1,2, CMV и EBV.

Автором впервые установлены ассоциации основных пародонтопатогенных бактерий и вирусов семейства *Herpesviridae* в биопленках пародонтальных карманов больных гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести заболевания и уточнена их роль в развитии деструктивных процессов в тканях пародонта.

Показано, что наибольшее количество ассоциаций с вирусами семейства *Herpesviridae* формируют пародонтопатогенные виды I порядка *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans*, как у больных гингивитом, так и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести. Не выявлено достоверной корреляции с пародонтопатогенным видом *T. forsythia*.

Изучение и оценка показателей гуморального звена адаптивного иммунитета с помощью иммуноферментного исследования выявили высокие уровни концентраций противовирусных антител в сыворотке крови больных гингивитом и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести как с литическим, так и с латентным течением герпесвирусной инфекции.

Результаты работы базируются на достаточном фактическом материале, полученном с использованием современных методов исследования на сертифицированном оборудовании; экспериментальная и клиническая части диссертации логически связаны, а клинико-лабораторные исследования определяют внутреннее единство диссертации и подтверждают эффективность предложенного алгоритма диагностики.

Положения, выносимые на защиту чётко аргументированы.

Достоверность исследования определялась обоснованной методической базой, дизайном исследования, наличием групп сравнения, адекватностью использованных методов микробиологического и иммунологического исследования, критериями включения и исключения, репрезентативностью выборки, а также корректной статистической обработкой данных.

Дизайн исследования соответствует принципам доказательной медицины, поставленным цели и задачам. Объем наблюдений достаточен. Транспорт биоматериала и его исследование проводили по установленным

правилам. Вклад автора состоит в проведении всех этапов исследования, литературном поиске, создании электронной базы данных, систематизации полученных результатов, статистической обработке, написании статей и тезисов, всех глав диссертации, формулировке положений, выносимых на защиту, выводов, практических рекомендаций.

Научные положения, выводы и практические рекомендации являются закономерным следствием основных научных положений, защищаемых автором, имеют научное и практическое значение. Автором проведён качественный анализ выявленных закономерностей с применением современных программных пакетов для статистической обработки данных, что подтверждает обоснованность представленных заключений.

Практическая значимость исследования

Практическая значимость диссертационной работы заключается в обосновании комплексного применения молекулярно-биологических и иммунологических методов исследований в диагностике воспалительных заболеваний тканей пародонта, позволяющих более точно оценивать роль не только наиболее вирулентных видов бактерий, но и их связь с вирусами семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV).

Автором исследования оценена общая инфицированность и спектр специфических антител к вирусам семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV), характеризующих литические и латентные формы герпесвирусной инфекции в большой когорте людей московского региона.

Установлены маркеры литической герпесвирусной инфекции по данным иммуноферментного определения антител и показано, что для острой литической инфекции характерны антитела IgM и IgG низкой авидности, в то время как для хронической и латентной – IgG высокой авидности.

Усовершенствованный новый способ диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта на основе определения ДНК пародонтопатогенов, уровня иммунного ответа и формы герпесвирусной

инфекции может способствовать улучшению качества стоматологического лечения пациентов с воспалительными заболеваниями тканей пародонта.

Структура, оформление и содержание диссертации

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Диссертация хорошо иллюстрирована 43 таблицами и 22 рисунками. Библиографический указатель содержит 219 источников, в том числе 70 отечественных и 149 иностранных.

Во «**Введении**» автор проводит обоснование актуальности исследования, степени разработанности темы, а также формулирует цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, анализирует научную новизну и практическую значимость работы. В разделе, посвященном методологии исследования, детально описаны объекты исследования, указаны материалы, основные методы исследования или даны ссылки на соответствующие документы, публикации, в которых приведены использованные известные методы микробиологической и иммунологической диагностики, сведения о примененных приборах и инструментах, программном обеспечении, нормативах и методах статистической обработки результатов. Количество обследованных лиц (654 больных хроническим пародонтитом, 122 человека с гингивитом и 151 человек группы сравнения - добровольцев без воспаления и видимой патологии внутренних органов) дало возможность Ягодиной Е.А. оперировать фактическим материалом и способствовало правильной статистической обработке полученных результатов. Это позволяет не только формулировать выявляемые закономерности и разрабатывать алгоритмы комплексной лабораторной диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта, но также провести и обосновать этиопатогенетическую диагностику заболевания, и

создать оптимальные условия для его успешного лечения и прогнозирования возможных рецидивов.

В главе 1 «Обзор литературы», которая соответствует теме, целям и задачам диссертационного исследования, проанализирован большой объем публикаций. В этой главе можно выделить три основных направления – 1) роль микробного фактора в развитии патологии пародонта, 2) современные представления о герпесвирусных инфекциях, 3) лабораторные диагностические методы исследований герпетических инфекций. Раздел написан с пониманием основной проблемы изучаемого вопроса. Автором проанализированы публикации, соответствующие теме исследования, преимущественно, за последние 10 лет. Это позволило сформулировать актуальность, поставить цель и задачи, выбрать наиболее оптимальные методы исследования.

Глава 2 начинается с рандомизации и характеристики клинических групп. 927 пациентов разбиты по нозологическим формам – гингивит (122 пациента) и пародонтит (654 пациента) и степени тяжести, согласно международным рекомендациям по данной патологии. Для контроля проведено обследование 151 практически здоровых людей с теми же гендерными характеристиками.

В главе 3 представлены результаты оценки распространенности HSV1, HSV2, CMV, EBV и пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia* в содержимом биопленок зубодесневой борозды здоровых людей, больных гингивитом и пародонтальных карманов пациентов с хроническим пародонтитом разных степеней тяжести. С помощью молекулярно-биологических исследований были выявлены варианты встречаемости вирусов семейства *Herpesviridae* и пародонтопатогенов в области зубодесневой борозды. Автором показано, что наибольшее количество статистически подтвержденных ассоциаций с вирусами семейства *Herpesviridae* формируют ключевые пародонтопатогенные виды бактерий *P. gingivalis* (HSV1, HSV2 и CMV) и *A.*

actinomycescomitans (HSV2, CMV и EBV), как у больных гингивитом, так и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести. Однако корреляционные связи чаще выявляли у EBV и CMV с *A. actinomycescomitans*, либо с *P. gingivalis*, реже – с *T. denticola*. Не выявлено существенных корреляций с *P. intermedia*, *T. forsythia*.

Глава 4 посвящена оценке специфического противовирусного иммунного ответа у обследованных пациентов с различными формами воспалительных заболеваний тканей пародонта и в группе сравнения – людей со здоровым пародонтом без системных заболеваний. Автором показано, что комплексное определение специфических антител IgM класса к HSV1,2, CMV и капсидному антигену VCA EBV; IgG к HSV1 и HSV2, предраннему антигену IEA CMV, поздним антигенам CMV, VCA EBV и ядерному антигену EBNA EBV позволяет определить форму герпесвирусной инфекции. Установлена низкая относительная частота неинфицированных герпесвирусами людей, высокая общая инфицированность обследованного контингента, а также доля людей с латентной и активной формой герпесвирусной инфекции. Особенно следует отметить, что, согласно серологическим лабораторным маркерам, более половины больных хроническим пародонтитом тяжелой степени имели активную форму герпесвирусной инфекции, о чем ранее было не известно. Эти данные также подтверждаются высокими концентрациями противовирусных антител в сыворотке крови больных гингивитом и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести как с литическим, так и с латентным течением герпесвирусной инфекции.

В разделе «**Обсуждение результатов**» и «**Заключение**» автором проводится тщательное сопоставление результатов собственных исследований с данными мировой, преимущественно иностранной литературы, в частности, предлагаются оригинальные схемы, раскрывающие иммунологические механизмы развития герпесвирусного поражения тканей пародонтального комплекса. При анализе изменения клинических

стоматологических показателей у пациентов с различными формами воспалительных заболеваний тканей пародонта в зависимости от наличия или отсутствия ДНК основных видов пародонтопатогенов и активной стадии герпесвирусной инфекции, оцениваемой соответствующими маркерами (присутствие вирусной ДНК в области зубодесневой борозды и/или противовирусных антител литической инфекции в сыворотке крови), соискателем обоснована взаимосвязь клинических индексных показателей, характеризующих выраженность воспалительной реакции тканей пародонта, с активной формой литической герпесвирусной инфекции и частотой выявления пародонтопатогенных бактерий. При этом показано, что активная форма литической герпесвирусной инфекции оказывает значительный вклад в деструктивные процессы тканей пародонта, приводящие к увеличению глубины пародонтальных карманов в зависимости от вида нозологии и степени тяжести процесса.

Выводы по диссертационной работе соответствуют поставленным задачам, аргументированы, убедительны и достоверны, соответствуют положениям, выдвинутым на защиту. **Практические рекомендации** четко сформулированы, представляют интерес для практического здравоохранения и воспроизводимы в условиях лечебно-профилактических учреждений.

Достоверность и апробация результатов исследования

Автором было включено в исследование 927 пациентов. Особый интерес представляет количество пациентов, и статистическая обработка с использованием современного программного обеспечения и надлежащего статистического анализа, что подтверждает значимость полученных в исследовании результатов.

Результаты исследований доложены и обсуждены на 9 научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. Основное содержание работы достаточно полно отражено в 22 печатных работах, в том числе в 11 публикациях в изданиях,

включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК.

Автореферат полностью отражает все положения и результаты диссертационной работы, оформлен в соответствии с требованиями, хорошо иллюстрирован таблицами и рисунками.

Соответствие специальности

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Очевидно, что данная диссертационная работа является завершенным научным трудом, выполненным на высоком методическом и научном уровне.

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В рукописи имеются отдельные стилистические погрешности. Хотелось бы уточнить некоторые положения:

1. Как Вы представляете синергизм парадонтопатогенов с герпесвирусами при их взаимодействии с клеткой?
2. Известно, что ГВИ является маркером иммунодефицитных состояний. Пытались ли вы найти такие причины у ваших пациентов?

Заключение

Диссертационная работа Ягодиной Елены Александровны на тему «Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики», выполненная под руководством д.м.н., профессора Царева В.Н. и д.м.н., профессора Николаевой Е.Н. и представленная к открытой защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной задачи по оптимизации

лабораторной диагностики герпесвирусной инфекции при воспалительных заболеваниях пародонта, что имеет большое научное и практическое значение для стоматологии.

Диссертационная работа Ягодиной Елены Александровны «Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики» по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 2 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 01 октября 2018 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор – Ягодина Елена Александровна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология и 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России)

доктор медицинских наук, профессор  Вячеслав Михайлович Червинцев

Адрес: 170100, Российская Федерация, Тверская область, г. Тверь, ул. Советская, д.4; тел.: +7(4822) 32-17-79; e-mail: info@tvngmu.ru

Подпись д.м.н., профессора Червинцева Вячеслава Михайловича заверяю:
Ученый секретарь ученого совета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава
России

к.б.н., доцент

«19» мая 2021 года



 Валерия Геннадьевна Шестакова