

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Марданлы Сейфаддина Гашим оглы на диссертационную работу Ягодиной Елены Александровны на тему «Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 03.02.03. – микробиология, 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Актуальность работы

Значение герпесвирусов, как пускового механизма воспаления пародонта интенсивно обсуждается в последние годы, но взаимосвязи вирусов с отдельными видами пародонтопатогенных бактерий стали изучаться лишь в последние годы XX и в начале XXI века. И хотя в этих исследованиях (См., например, ЮImai K., 2012; Passariello C., 2017) уже высказывалось предположение о том, что в этиопатогенез деструктивных заболеваний тканей пародонта вовлечены представители семейства герпесвирусов и были исследованы ассоциации между герпесвирусами, в частности и заболеваниями тканей пародонта, материалы исследований были представлены малыми объемами выборки, что не позволяло делать статистически обоснованные выводы. Кроме того, в большинстве работ не учитывались ассоциативные связи герпесвирусов с конкретными представителями пародонтопатогенной микробиоты.

Поэтому, учитывая крайне слабую степень разработанности ассоциативных связей вирусно-бактериального консорциума при рассматриваемой патологии, диссертационную работу Ягодиной Елены Александровны, посвященную характеристике лабораторных молекулярных маркеров участия герпесвирусов в этиопатогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта (гингивита и хронического пародонтита) в сочетании с оценкой общепринятых возбудителей бактериальной инфекции, так называемой пародонтопатогенной группы, следует признать актуальной.

Научная новизна результатов исследования, обоснованность научных выводов и рекомендаций

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне. Использованные методы микробиологического, иммунологического и клинико-лабораторного исследования разнообразны, хотя и узконаправлены на определённый срез проблемы, связанный с доступностью для практического применения в лечебно-профилактических учреждениях, являются современными и в полной мере обеспечивают решение поставленных задач.

Исследование основано на достаточном объёме данных для получения статистически значимых результатов с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. В диссертации проанализированы результаты обследования 927 человек рандомизированных групп сравнения в возрасте от 18 до 75 лет, в том числе – 493 (53%) женщины и 434 (46%) мужчины. Массив данных разбит по нозологическим формам – гингивит (122 пациента) и пародонтит (654 пациента) и степени тяжести, согласно международным рекомендациям по данной патологии (класс по МКБ 10: K.05.3). Для контроля проведено обследование 151 практически здорового субъекта с теми же гендерными характеристиками.

Диссертационную работу с положительной стороны характеризует рационально выбранный научно-методический и диагностический комплекс, адекватный задачам исследования.

Диссертантом:

- подтверждено наличие герпетической инфекции и дифференцированы литическая и латентная формы герпесвирусной инфекции у больных гингивитом, хроническим пародонтитом и людей со здоровым пародонтом на основе лабораторных серологических маркеров острой фазы и пастинфекции HSV1,2, CMV и EBV;

- выявлены ассоциации пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia* и вирусов семейства *Herpesviridae* в биопленках в области зубодесневой борозды здоровых людей, больных и с гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести заболевания и уточнена их роль в развитии деструктивных процессов в тканях пародонта;

- определена диагностическая ценность серологических лабораторных маркеров для оптимизации диагностики и прогнозирования характера течения литической формы герпесвирусной инфекции у больных гингивитом и хроническим пародонтитом (в области зубодесневой борозды);

- определены наиболее значимые диагностические критерии осложненного характера течения воспалительных процессов в области зубодесневой борозды на основании серологических и молекулярно-генетических маркеров литической формы герпесвирусной инфекции.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость исследования заключается в расширении представлений об общей инфицированности пациентов представителями семейства *Herpesviridae* и демонстрацией различия спектра специфических антител к вирусам HSV1,2, CMV и EBV, описанных в качестве дифференциально-диагностических критериев литической и латентной формы инфекции. Полученные данные могут быть использованы в качестве контроля для дальнейших исследований.

Практическая значимость исследования заключается в разработке нового способа диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта на основе определения ДНК пародонтопатогенных бактерий и формы сопутствующей герпесвирусной инфекции, в том числе, осложняющей течение основного заболевания, а также повышении эффективности лабораторной диагностики и улучшения качества стоматологической

помощи пациентам с воспалительными заболеваниями тканей пародонта на основе использования современных диагностических, прогностических и интерпретационных подходов, основанных на результатах молекулярно-биологической и иммунологической диагностики, полученных диссертантом.

В результате проведенного диссертантом исследования разработан и обоснован протокол лечебно-профилактического сопровождения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, включающий рекомендации по выявлению молекулярных маркеров герпесвирусной инфекции (микробиологических и иммунологических), а также установлены взаимосвязи между персистенцией отдельных видов вирусов и представителей пародонтопатогенных анаэробных бактерий, являющихся основными факторами развития пародонтита.

Разработанный научный подход применяется в клинико-лабораторной практике работы лаборатории молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ) МГМСУ им. А.И. Евдокимова и Центра клинической стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, а также внедрен в учебно-образовательный процесс кафедр: микробиологии, вирусологии, иммунологии; пропедевтики стоматологических заболеваний; хирургической стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова в виде лекций и оснащения учебного процесса на занятиях по теме «Вирусология» и «Микробиология полости рта», учебных пособий, тетрадей-практикумов для студентов и разделов учебника «Микробиология, вирусология, иммунология» / под ред. проф. В.Н. Царёва, М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019 (глава 15). Возбудители вирусных заболеваний. С.394-427).

Структура, оформление и содержание диссертации

Диссертация Ягодиной Е.А. 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 иллюстрирована 43 таблицами и 22 рисунками. Библиографический указатель содержит 219 источника, в том числе 70 отечественных и 149 иностранных.

Во «Введении» автор проводит обоснование актуальности исследования, степени разработанности темы, а также формулирует цель и задачи, анализирует научную новизну и практическую значимость работы. Литературный обзор информативен, содержит достаточное количество новых работ за последние 5-10 лет, состоит из четырёх разделов, где отражена этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта, значение бактериальных и вирусных агентов в этиологии и развитии деструктивных процессов тканей пародонта и альвеолярной кости челюстей.

Глава 2 «Результаты собственных исследований» начинается с рандомизации и характеристики клинических групп и отличается аккуратностью и скрупулёзностью критериального отбора пациентов в исследование. Массив данных (927 пациентов) разбит по нозологическим формам – гингивит (122 пациента) и пародонтит (654 пациента) и степени тяжести, согласно международным рекомендациям по данной патологии (класс по МКБ 10: K.05.3). Для контроля проведено обследование 151 практически здорового субъекта с теми же гендерными характеристиками. Все пациенты были проинформированы о методике обследования и подписали «Информированное добровольное согласие» для участия в данном диссертационном исследовании.

В главе 3 диссертантом представлены результаты исследований определения ассоциаций герпесвирусов с пародонтопатогенными бактериями зубодесневой биоплёнки. В процессе работы проводилось комплексное обследование пациентов, с изучением материалов клинико-лабораторными и микробиологическими(молекулярно-биологическими) методами. При оценке бактериального фактора воспалительных заболеваний пародонта по данным

мультиплексной ПЦР с высокой частотой выявлены представители пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia*, а также их ассоциации с вирусами семейства *Herpesviridae* в биопленках в области зубодесневой борозды больных гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести заболевания. В частности, впервые установлено, что у больных с гингивитом и хроническим пародонтитом всех степеней тяжести существуют статистически достоверные ассоциативные связи между частотой встречаемости CMV и *P. gingivalis*, EBV и *A. Actinomycetemcomitans* и *P. intermedia*, а также CMV и *T. denticola* - в основном за счет больных пародонтитом тяжёлой степени. Полученные результаты могут быть использованы при прогнозировании обострений заболевания и определении тактики лечения, что представляется крайне важным в практическом плане. Интересные данные получены по наиболее часто встречающемуся вирусу - HSV1. Частота его обнаружения коррелировала с выявлением ведущего пародонтопатогенного вида - *P. gingivalis* при всех видах патологии пародонта и с *T. denticola*, только у больных гингивитом (но не пародонтитом). Примечательно, что из 122 здоровых лиц ни у одного обследуемого подобных ассоциаций не выявлено, хотя отдельно (в контрольной группе) HSV1 встречался у 3%.

Глава 4 посвящена анализу иммунологических данных, полученных с помощью традиционного иммуноферментного метода исследования сыворотки крови. В этой главе анализируются общая инфицированность пациентов герпесвирусами по данным определения спектра специфических антител – IgM и IgG разной авидности, интенсивность антителообразования против герпесвирусов при разных видах патологии пародонта, влияние продуктивной формы герпесвирусной инфекции на клинко-стоматологические показатели. При проведении иммунологической части исследования с помощью ИФА, в соответствии с установленными стандартами и клиническими рекомендациями, диссертантом установлена

высокая частота выявления серологических маркеров острой фазы и латентной формы герпесвирусной инфекции, обусловленной HSV1,2, CMV и EBV у больных гингивитом, хроническим пародонтитом и в меньшей степени – у людей со здоровым пародонтом, что подтверждено данными статистического анализа.

В разделах «Обсуждение результатов» и «Заключение» диссертант тщательно анализирует полученные данные, проводит их глубокую оценку и сопоставление с данными мировой литературы, касающейся вопросов изучения микробиоты при воспалительных заболеваниях пародонта. Полученный значительный массив данных позволил автору впервые дать всестороннюю оценку диагностической значимости серологических лабораторных маркеров для оптимизации диагностики и прогнозирования характера течения литической формы герпесвирусной инфекции у больных гингивитом и хроническим пародонтитом, в результате чего выявлены диагностические серологические и молекулярно-генетические маркеры литической формы герпесвирусной инфекции и их количественные характеристики, позволяющие сделать заключение об осложненном характере течения воспалительных процессов в области зубодесневой борозды.

Выводы убедительны, достоверны, соответствуют результатам исследования и дают ответ на все поставленные задачи. Практические рекомендации четко сформулированы, представляют интерес для практического здравоохранения и воспроизводимы в условиях клиники. Несомненное практическое значение имеет то, что при оценке диагностических серологических и молекулярных показателей, проведённой диссертантом, показано, что относительная частота выявления активной репликации моно- и микстинфекций, вызванных герпесвирусами, значительно выше, чем при использовании только вирусной ДНК, что следует учитывать при диагностике и выборе способа лечения воспалительных заболеваний полости рта.

Достоверность и апробация результатов исследования

Достоверность результатов, полученных Ягодиной Е.А., определяется рациональным дизайном исследования, сочетанием современных методов микробиологического, молекулярно-биологического и иммунологического исследования, включая применение мультиплексной полимеразной цепной реакции, иммуноферментного анализа в твердой фазе, параметрического и непараметрического статистического анализа с подтверждением вероятности нулевой гипотезы. Клиническая часть работы представляет собой аналитическое проспективное исследование случайных клинических групп сравнения с аналитической оценкой заявленных параметров клинико-лабораторных исследований. В результате проведенного диссертационного исследования доказаны статистически значимые взаимосвязи между отдельными компонентами вирусно-бактериального консорциума, а также корреляции с клинической характеристикой процесса в пародонте, что позволило подтвердить и уточнить роль конкретных представителей микробиоты полости рта (анаэробных бактерий и герпесвирусов) в развитии деструктивных процессов в тканях пародонта.

Диссертационная работа представлена широкой научной общественности и доложена на научных съездах и конференциях. По теме диссертационной работы опубликовано 11 печатных работ в рецензируемых журналах из перечня ВАК. Результаты исследования, положения, выдвинутые на защиту и выводы полностью освещены в публикациях диссертанта (всего 22 печатные работы).

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.

Принципиальных замечаний не имею. По ходу анализа диссертационной работы к диссертанту возникли вопросы, которые ни в коем случае не снижают высокой научной и практической ценности диссертации, поскольку носят чисто уточняющий характер и вызваны скорее актуальностью затронутой диссертантом проблемы:

1. Поскольку в исследовании проведена оценка инфицированности обследованных пациентов четырьмя типами герпесвирусов, планируется ли продолжение таких исследований с включением в число определяемых герпесвирусов еще 7 и 8 типов?

2. Индекс avidности определялся для IgG только к HSV1 и HSV2 ?

Заключение

Диссертационная работа Ягодиной Елены Александровны на тему: «Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики», выполненная под руководством Заслуженного работника высшей школы РФ, д.м.н., профессора Царёва В.Н. и д.м.н., профессора Николаевой Е.Н., и представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной задачи оптимизации диагностики герпесвирусной инфекции при воспалительных заболеваниях пародонта, что имеет большое научное и практическое значение.

По актуальности избранной темы, объему проведенных исследований, методологическому уровню их исполнения, достоверности и обоснованности полученных результатов, их новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Ягодиной Елены Александровны полностью 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 02 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 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент

Профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Министерства образования Московской области (ГОУ ВО МО ГГТУ)

доктор медицинских наук, доцент Марданлы Сейфаддин Гашим оглы

Адрес: 142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д.22
тел.: +7(496) 425-78-75; e-mail: mo_ggtu@mosreg.ru

Подпись д.м.н., доцента Марданлы Сейфаддина Гашим оглы заверяю:

Проректор по научной работе ГГТУ,
кандидат филологических наук, доцент

Яковлева Э.Н.



«21» август 2021 года