

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Пархоменко Юрия Георгиевича на диссертационную работу Быхалова Леонида Сергеевича, на тему «Клинико-морфологические закономерности при ВИЧ/туберкулёз ко-инфекции», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

### Актуальность исследования.

Диссертационная работа Л. С. Быхалова посвящена актуальной проблеме - изучению патоморфологических закономерностей туберкулёза у ВИЧ-инфицированных и его индуцированного патоморфоза. В настоящее время туберкулёз является одним из социальнозначимых заболеваний и несёт глобальную угрозу всему человечеству. Туберкулез является второй по частоте причиной смерти от какого-либо одного инфекционного агента, уступая лишь ВИЧ/СПИДу, обе инфекции изолированно и вместе являются самой значимой глобальной угрозой человечеству среди всех инфекционных болезней.

В 2013 году выявлено 1,1 миллиона новых случаев заболевания туберкулёзом среди ВИЧ-позитивных. Несмотря на 70% охват пациентов, получающих высокоактивную антиретровирусную терапию при ВИЧ/туберкулёз ко-инфекции, туберкулёз или его осложнения является непосредственной причиной смерти. Кроме того, совместное применение ВААРТ и ПТП приводит к более выраженным побочным эффектам, что ограничивает проведение полноценной терапии. В 2012 году в мире умерло 320 тыс. человек от ВИЧ/ТБ ко-инфекции, а в 2013 около 360 тыс. больных. Большинство пациентов ведут асоциальный образ жизни, не принимают препараты или прерывают прием, в результате чего профилактика и лечение сходят на нет, формируется лекарственная устойчивость как МБТ к ПТП, так и ВИЧ к ВААРТ, в результате пациенты имеют низкий реабилитационный потенциал, у них чаще происходит прогрессирование ТБ с тяжёлой

инвалидизацией.

Общность среды с социальными контактами ВИЧ-инфицированных лиц и больных туберкулёзом, психотравмирующие факторы с формированием личностных проблем к восприятию заболеваний, влияющих на приверженность к терапии, побочные эффекты лекарственных средств, а также факторы девиантного характера, в виде приема психоактивных веществ, таких как алкоголь, наркотические средства, способствуют усилению иммунодефицита, что отражается на клиническом течении и патоморфологии туберкулёзного процесса у ВИЧ-инфицированных.

В связи с изложенным, автором обоснована **цель исследования** - установить клинико-морфологические закономерности патоморфоза туберкулёза у ВИЧ-инфицированных.

Автор поставил следующие **задачи исследования**: изучить особенности продуктивного воспаления в лёгких при туберкулёзе у ВИЧ-инфицированных, выявить патоморфологические изменения в лёгких у умерших при ВИЧ/ТБ ко-инфекции на фоне алкогольной и инъекционной героиновой наркотической зависимости, а также у лиц с отсутствием приверженности к лечению и на фоне высокоактивной антиретровирусной терапии, охарактеризовать межклеточные взаимоотношения при ко-инфекции ВИЧ/туберкулёз с использованием программного компьютерного анализа и оценкой иммунофенотипа с определением экспрессии биомаркёров CD3, CD7, CD10, CD34, миелопероксидазы, Вах, Bcl-2, Caspase-3, PAX-5, B0B-1 на аутопсийном материале лиц с различными медико-социальными параметрами, изучить ультраструктурные и морфофункциональные изменения в лёгких в очагах специфического воспаления при ко-инфекции ВИЧ/ТБ, обобщить закономерности патоморфоза туберкулёза у ВИЧ-инфицированных с учётом медико-социальных и клинико-морфологических параметров.



## Содержание работы

Диссертация построена традиционно и состоит из введения, 4 глав: обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 312 страницах компьютерного текста, содержит 55 рисунков, 47 диаграмм, 72 таблицы. Список литературы состоит из 390 работ, из них – 252 отечественные и 138 зарубежных.

В обзоре литературы приводятся данные об эпидемиологических и медико-социальных аспектах ВИЧ-инфекции и туберкулёза, клинко-морфологических и патогенетических аспектов ВИЧ-инфекции с учётом патоморфоза туберкулёза, с акцентом на частные аспекты молекулярных механизмов, которые лежат в основе поддержания нормального функционирования иммунитета и его изменений в условия иммунодефицита. Во второй части главы проводится анализ современных фактов и теорий об особенностях клинко-морфологических и патогенетических аспектов туберкулёза при ВИЧ-инфекции с учётом патоморфоза.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования, автор подробно описывает этапы исследования, на которых произведена выборка медицинской и статистической документации в контингентах больных ВИЧ-инфекцией в сочетании с туберкулёзом на базах: ФКУ «Главное бюро медико-социальной экспертизы по Волгоградской области», ГКУЗ «Волгоградский областной клинический противотуберкулезный диспансер», ГКУЗ «Волгоградский областной Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». Поскольку проблема носит комплексный медико-социальный характер, диссертант выделил собственно социальный и клинко-морфологический аспекты проблемы, отражающие патоморфоз ко-инфекции ВИЧ/ТБ в различных социальных группах.

Для изучения клинко-функциональных данных больных диссертант

использовал современные высокотехнологичные аппаратно-диагностические системы.

Морфологический блок исследования был выполнен на значительном количестве аутопсийного материала (556 случаев) больных ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз. Исследуемый материал был разделён на следующие группы: 1 группа - умершие с моно-инфекцией ТБ, 2 группа - умершие с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией. Вторая группа состояла из шести подгрупп: 1 подгруппа (n=50) – стадия 4А-4Б ВИЧ-инфекции, при количестве CD4+-лимфоцитов более 200 клеток/мкл без АРВТ; 2-я подгруппа (n=54) – стадия 4Б-4В ВИЧ-инфекции, количество CD4+- лимфоцитов в диапазоне от 100 до 200 клеток/мкл без АРВТ; 3-я подгруппа (n=125) – стадия 4В-5, количество CD4+- лимфоцитов менее 100 клеток/мкл без АРВТ; 4-я подгруппа (n=31) умершие с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением алкоголя (хроническая алкогольная зависимость, хронический алкоголизм по данным медицинской документации, диагноз психиатра-нарколога); 5-я подгруппа (n=47) умершие с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением опиоидов (инъекционная героиновая наркотическая зависимость, героиновая инъекционная наркомания по данным медицинской документации, диагноз психиатра-нарколога); 6-я подгруппа (n=50) умершие с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией без указания в анамнезе на хроническую алкогольную и наркотическую зависимость в сочетании с АРВТ. Включение во 2 группу проводилось с учетом результатов серологических реакций определения IgG, IgM к ЦМВИ, ВПГ, токсоплазмозу, хламидиозу, микоплазмозу, пневмоцистозу. Кроме того, учитывались данные иммунного статуса с определением методом проточной цитометрии количества CD4+ лимфоцитов, CD8+ лимфоцитов, CD3+ лимфоцитов, соотношения CD4/CD8, а также вирусологических показателей ПЦР: РНК ВИЧ, РНК HCV, РНК HBV. В данной главе Л.С. Быхалов



подробно охарактеризовал методы качественного и количественного морфологического, иммуногистохимического исследования, трансмиссионной электронной микроскопии, а также изложил методы статистической обработки и анализа полученных данных.

Последующие главы включают в себя результаты собственных исследований. Третья глава состоит из пяти подглав, в которых рассмотрены эпидемиологические особенности, охват лечением, инвалидность при ко-инфекции ВИЧ/туберкулёз в Волгоградской области в динамике. Дана социальная и клинико-морфологическая характеристика больных ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз, уточнены причины смерти с учётом сличения клинических и патологоанатомических диагнозов. Проведена морфологическая характеристика умерших от генерализованных форм туберкулёза при ко-инфекции ВИЧ/туберкулёз. Автором установлено, что за исследуемый период с 2010 по 2014 гг. в Волгоградской области количество заболевших туберкулёзом среди ВИЧ-инфицированных больных увеличилась в 13 раз, инвалидность выросла в 15 раз, прогрессирование туберкулеза явилось непосредственной причиной смерти в 74,5% случаев, а генерализованный туберкулёз находится на первом месте (59,2 %) в структуре летальности.

Автором показано, что на различных стадиях инфекционного процесса при ВИЧ/ТБ ко-инфекции отмечаются различия в преобладании форм туберкулеза на III-IVА стадиях отмечается преобладание инфильтративного ТБ лёгких, доля которого составила 82,6%, на IVБ стадии - 53,7%, что характеризовалось постепенным снижением количества CD4+ лимфоцитов. По мере прогрессирования иммунодефицитного состояния увеличивалась доля внелёгочных и генерализованных форм туберкулёза, которые на V стадии ВИЧ/ТБ ко-инфекции составили более половины случаев (53,8%). Автор описал и проиллюстрировал фотоматериалом макроскопические и микроскопические изменения органов при генерализованном туберкулёзе.

В четвёртой главе автор продемонстрировал и сопоставил результаты иммуногистохимического исследования тканей легких и лимфатических узлов в различных группах с использованием биомаркеров CD10, CD7, CD3, Вах, Вс1-2, миелопероксидазы, CD34, PAX-5, VOB.1 для характеристики субпопуляций лимфоцитов, гистиоцитов, процессов апоптоза. Определение иммунофенотипа клеток сопровождалось последующей программной компьютерной морфометрией, вычислением относительной площади иммунореактивного материала в зонах гранулематозного воспаления и в паренхиме легких, а также результаты электронно-микроскопического исследования. При электронно-микроскопическом исследовании при ВИЧ/ТБ ко-инфекции установлено преобладание незрелых макрофагов, способствующее снижению их фагоцитарной активности по отношению к микобактериям туберкулеза и появлением промежуточных форм фагоцитов, незрелых клеток со слабо развитым лизосомальным аппаратом, без выраженных признаков фагоцитоза.

Следует отметить, что самим автором, с использованием в том числе и программного морфометрического анализа, произведено более нескольких тысяч измерений что, в общем, даёт представление об объёме проделанной им работе. Произведен регрессионный анализ с вычислением коэффициентов корреляции и построением диаграмм. Таким образом, на основании представленного объёма морфометрических данных можно говорить о репрезентативности исследования и возможности распространения результатов на генеральную совокупность.

В разделе «Обсуждение полученных результатов» автор проводит обобщение и сопоставление полученных результатов с данными литературы. Приведённый в диссертации анализ современного состояния изучаемой проблемы, позволяет сделать вывод о том, что большая часть авторов не проводит комплексный анализ патоморфоза туберкулеза у ВИЧ-инфицированных, что дает определённую ценность и новизну исследования



Быхалова Л.С.

Полученные результаты позволили автору сформулировать 14 выводов, которые соответствуют задачам исследования.

#### **Степень научной новизны и достоверность результатов.**

Материал, использованный в диссертационной работе, достаточен по числу наблюдений. Из аутопсийного материала было получено 5587 парафиновых блоков и более 6000 гистологических микропрепаратов.

Помимо рутинного гистологического исследования использовалась окраска на выявление кислотоустойчивых микобактерий по Цилю-Нильсену, иммуногистохимические методы исследования с использованием антител против каспазы-3, CD3, CD7, CD10, BOB.1, PAX-5, CD34, Vc1-2 и Вах, а также трансмиссионная электронная микроскопия. Исследование микропрепаратов проводили на световом микроскопе «Carl Zeiss» (Германия) с встроенной цифровой камерой с последующим морфометрическим анализом с применением программы Image Analysis (Германия), дополненное корректной статистической обработкой полученных результатов исследования. Выводы и практические рекомендации адекватно сформулированы, достоверны и обоснованы. Все это позволяет сделать заключение о репрезентативности результатов и выводов диссертации.

**Научная новизна исследования.** Автором впервые на основании анализа динамики случаев заболеваемости инвалидности, смертности проведена оценка эпидемической ситуации по туберкулёзу в сочетании с ВИЧ-инфекцией в Волгоградской области за период с 2004 по 2014гг. Продемонстрировано увеличение количества заболевших в 13 раз, инвалидности в 15 раз, умерших в 20 раз.

На большом секционном материале (556 случаев ко-инфекции ВИЧ/ТБ) показано преобладание генерализованных форм туберкулёза, который занимает первое место (59,2 %) в структуре летальности и

характеризуется тенденцией неуклонного роста.

Впервые дана морфологическая характеристика патологических изменений в очагах продуктивного воспаления при ВИЧ/ТБ у лиц с хронической наркотической зависимостью, которые сопровождаются генерализацией туберкулезного процесса и преобладанием тканевых реакций альтеративно-некротического типа с учетом соотношения экспрессии про- и антиапоптозных биомаркеров, сохранением экссудативных явлений и возрастанием доли функционально незрелых клеток моноцитарного ряда, оцениваемых по возрастанию уровня экспрессии миелопероксидазы.

Впервые установлено снижение количества CD10<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>лимфоцитов при ВИЧ/ТБ ко-инфекции, сопровождающееся возрастанием числа CD7<sup>+</sup>лимфоцитов в очагах продуктивного воспаления в лёгких, что сопровождалось возрастанием экспрессии биомаркеров ВОВ.1 и PAX-5 в клетках лимфоидного ряда лимфатических узлов, что отражает нарушение характера межклеточных взаимодействий в повреждённых тканях различных органов.

Уточнены ультраструктурные изменения в лёгких вне и в очагах специфического воспаления при ко-инфекции ВИЧ/ТБ. Установлено, что наиболее выраженные ультраструктурные изменения обнаруживаются в легких при ко-инфекции ВИЧ/ТБ у лиц, не принимавших антиретровирусные препараты с выраженным снижением CD 4<sup>+</sup> лимфоцитов (CD 4<sup>+</sup> <100 кл/мкл) и характеризуются преобладанием незрелых макрофагов, появлением промежуточных форм, со слабо развитым лизосомальным аппаратом без выраженных признаков фагоцитоза, а также клеток с незавершенным фагоцитозом и с сохранными митохондриями.

На основании проведенного многоуровневого анализа с программной компьютерной морфометрией и определением иммунофенотипа клеток сформулирована теоретическая концепция о закономерной смене тканевых



реакций гранулематозного, экссудативно-продуктивного и альтеративно-некротического типов при туберкулезе по мере прогрессирования ВИЧ-инфекции и преобладании тканевых реакций альтеративно-некротического типа с определенной вариабельностью у лиц с наркотической зависимостью, что способствует генерализации туберкулезного процесса.

### **Теоретическая значимость и практическая ценность диссертации.**

Диссертация Л.С. Быхалова является фундаментальным исследованием, результаты которого вносят значимый вклад в решение ряда актуальных проблем патоморфологии и поднимают на новый качественный уровень знания тех ее разделов, которые занимаются изучением коинфекции ВИЧ/туберкулез. Полученные автором данные расширяют теоретические представления о патоморфологических закономерностях туберкулеза у ВИЧ-инфицированных и его индуцированного патоморфоза. При этом убедительно сформулирована теоретическая концепция о закономерной смене тканевых реакций при туберкулезе по мере прогрессирования ВИЧ-инфекции и преобладании альтеративно-некротических реакций у лиц с наркотической зависимостью, что способствует генерализации туберкулезного процесса.

Диссертация Л.С. Быхалова имеет очевидную практическую значимость с позиций разработки новых подходов в дифференциальной морфологической диагностике инфекционных болезней. Комплексный анализ результатов исследования раскрывает эпидемическую ситуацию в Волгоградской области с демонстрацией факторов, ухудшающих медико-социальную составляющую, инвалидизацию и смертность с учетом патоморфологических признаков, характеризующих прогрессию коинфекции ВИЧ/ТБ.

При патологоанатомической диагностике туберкулеза у ВИЧ-инфицированных рекомендуется проводить иммуногистохимическую верификацию клеточных популяций, с их количественной оценкой, что позволяет выявить нарушения в процессах дифференцировки и клеточной гибели макрофагов, лимфоцитов.

Проведенное исследование позволило выявить более точные сведения о группах риска по развитию и прогрессированию туберкулёза у ВИЧ-инфицированных лиц, что имеет большое социальное значение, как в профилактической, так и в практической медицине.

Диссертация Л.С. Быхалова является завершённой научно-квалификационной работой, в которой выполнены поставленные цель и задачи исследования с учетом современных требований. В автореферате отражено основное содержание диссертации, в публикациях по теме исследования получили освещение основные положения, выводы, практические рекомендации, сделанные автором. По теме диссертации опубликовано 45 научных работ, из них 20 в журналах перечня изданий Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты на соискание ученой степени доктора наук.

**Личный вклад соискателя состоит в** планировании исследования, проведении морфологического и иммуногистохимического исследования, проведении комплексной клинико-морфологической характеристике туберкулеза у ВИЧ-инфицированных с учетом медико-социальных параметров больных, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций по выполненной работе.

Принципиальных замечаний работа Быхалова Л.С. не вызывает, однако в ней отмечаются некоторые стилистические ошибки. Можно предложить как замечание отсутствие сформированной таблицы



отражающей экспрессию биомаркеров апоптоза, которое затрудняет чтение рукописи.

При изучении диссертационной работы возник вопрос:

Чем обусловлены, по вашему мнению отличия в морфологической картине гранулематозного воспаления у ВИЧ-инфицированных с генерализованным туберкулёзом на фоне хронической алкогольной зависимости и без зависимости?

В целом построение работы отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Рецензируемая диссертация хорошо иллюстрирована, большинство рисунков хорошего качества. Указанные замечания не являются принципиальными, не уменьшают значимость проведенного исследования.

### **Заключение.**

Таким образом, диссертация Быхалова Леонида Сергеевича «Клинико-морфологические закономерности при ВИЧ/туберкулёз ко-инфекции» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной проблемы патоморфологической диагностики ко-инфекции ВИЧ/туберкулез с позиций комплексного многоуровневого исследования с учетом иммунофенотипа, имеющей существенное значение для патологической анатомии, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённых постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемым ВАК при Министерстве образования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а соискатель, Быхалов Леонид Сергеевич, достоин присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 — патологическая анатомия.

Главный научный сотрудник  
лаборатории инфекционной патологии и  
молекулярной микробиологии  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,  
доктор медицинских наук,  
профессор по специальности патологическая анатомия 14.03.02

Пархоменко Юрий Георгиевич

Подпись д.м.н., профессора Пархоменко Юрия Георгиевича

Заверяю: ученый секретарь ФГБНУ НИИ морфологии человека

д.м.н. Л.П.Михайлова

«05» 04 2017 года

Почтовый адрес — 127418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

Телефон рабочий — 8(499)120-80-65

Электронная почта — morfolhum@mail.ru





## Сведения

## Об официальном оппоненте

по диссертации Леонида Сергеевича Быхалова «Клинико-морфологические закономерности при ВИЧ/туберкулёз инфекции»

по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

№ п/п	Фамилия Имя Отчество	Год Рождения Гражданство	Место основной работы, адрес места работы, телефон, email	Ученая степень, шифр, специальность	Ученое звание	Шифр специальности в совете и отрасль науки	Основные работы по профилю диссертации
1.	Пархоменко Юрий Георгиевич	1938 г.р. гражданство Россия	Главный научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии и молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3, телефон/факс: +7 (499)120-80-65, e-	Доктор медицинских наук, специальность: 14.03.02 – патологическая анатомия	Профессор	Специальность 14.03.02 - патологическая анатомия, медицинские науки	1. Placental CCR5, VAX, CD34 AND KI67 placental expression in HIV-associated pregnancy. Pavlov K.A., Shemanaeva T.V., Dubova E.A., Shchyogolev A.I., Parkhomenko Y.G. Virchows Archiv. 2015. T. 467. № S1. С. S102. 2. Гистологические и ультраструктурные изменения в легких при ВИЧ-инфекции в сочетании с туберкулезом Зюзя Ю.Р., Бархина Т.Г., Пархоменко Ю.Г., Черников

			<p>mail: morfolhum@mail.ru, сайт: www.morfolhum.ru.</p>			<p>В.П. Архив патологии. 2015. Т. 77. № 1. С. 23-29.</p> <p>3. Корреляция морфологических признаков туберкулеза и состояния иммунного статуса при ВИЧ-инфекции. Зюзя Ю.Р., Зимина В.Н., Пархоменко Ю.Г., Альварес Фигероа М.В., Долгова Е.А. Туберкулез и болезни легких. 2014. № 11. С. 48-53.</p> <p>4. Морфологическая характеристика ВИЧ-ассоциированного туберкулеза в зависимости от количества CD4+ лимфоцитов в крови Зюзя Ю.Р., Зимина В.Н., Альварес Фигероа М.В., Пархоменко Ю.Г., Долгова Е.А. Архив патологии. 2014. Т. 76. № 5. С. 33-37.</p> <p>5. Основные принципы</p>
--	--	--	---	--	--	---



						<p>формулировки патолого-анатомического диагноза при ВИЧ-ассоциированных инфекциях. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р. Архив патологии. 2013. Т. 75. № 6. С. 44-47.</p> <p>6. Морфологические особенности пневмоцистной пневмонии при ВИЧ-инфекции. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зимина В.Н., Тишкевич О.А.. Пульмонология. 2012. № 5. С. 56-61.</p>
--	--	--	--	--	--	---

Официальный оппонент доктор медицинских наук, профессор

Ю.Г. Пархоменко

Подпись профессора Пархоменко Ю.Г. заверяю

*Уткиной секретарь Р.М.И.*



*Мш*

*Михайлова Л.П.*