

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук,
профессора Гариба Фируза Юсуповича
на диссертационную работу Брагвадзе Беллы Гелаевны
«ОСОБЕННОСТИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология,
аллергология**

Актуальность темы диссертации

Предметом исследования диссертационной работы являются изучение особенностей врожденного иммунитета у детей больных бронхиальной астмой разной степени тяжести на локальном и системном уровнях. В настоящее время углубленное исследование компонентов врожденного иммунитета способствует более детальному пониманию механизма развития болезни и разработке патогенетически обоснованной терапии.

В частности, остается недостаточно исследованной экспрессия генов распознающих рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9) в клетках слизистой оболочки полости носа и лейкоцитах периферической крови больных, экспрессия гена дефензина HBD1 в клетках слизистой оболочки полости носа, содержание IL-33 и TSLP на локальном и системном уровнях, особенности цитокинового профиля, на уровне про- и противовоспалительных цитокинов, в назальных смывах, экспрессию противовирусного цитокина IL-28B на уровне гена и молекулы, определение молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с бронхиальной астмой у детей.

Исходя из вышеизложенного, тема исследования актуальна.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность положений, выводов и практических рекомендаций диссертационной работы подтверждается обширным анализом научной литературы и экспериментальными данными, полученными диссертантом в

ходе работы, а также корректностью применения апробированного в научной практике исследовательского и аналитического аппарата. Сформулированные выводы доказательны и в полной мере соответствуют поставленным задачам и раскрывают цель научной работы.

Отраженные в диссертации научные положения соответствуют формуле специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология. Обоснованность практического использования научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается соответствующими документами.

Важно отметить, что основные положения диссертации докладывались и обсуждались на представительных всероссийских и международных конференциях и симпозиумах. Результаты работы внедрены в клиническую практику отделения стационаро-замещающих технологий ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также в учебный процесс кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова Минздрава России для студентов, ординаторов и аспирантов.

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 8 полнотекстовых статей в ведущих рецензируемых журналах, определенных ВАК РФ и 10 статей и тезисов в материалах конференций и симпозиумов. Получен патент “Способ оценки врождённого иммунитета у детей с бронхиальной астмой” №2618410 от 04.05.2017.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием и анализом большого массива клинических и экспериментальных данных, применением современных, высокоинформативных методов исследования.

В качестве биологического материала в работе были использованы соскобы слизистой оболочки полости носа и носоглотки, смывы из полости

носа, а также цельная кровь, собранная в пробирку с ЭДТА, сыворотка и лейкомасса.

С целью исследования экспрессии генов TLR2, TLR4, TLR9, HBD1 и IL-28B использован метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Из соскобов со слизистой оболочки и лейкоцитарной массы выделяли общую РНК. Реакцию обратной транскрипции проводили в амплификаторе ДТ-96 с применением «Набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBRGreenI» и праймеров. Анализ результатов проводили относительным методом измерений, показывающих во сколько раз больше или меньше экспрессия исследуемого гена в образце по отношению к гену актина.

Экспрессию молекул TLR2 и TLR4 на лейкоцитах периферической крови оценивали на проточном цитометре Beckman Coulter Navios (BeckmanCoulter, США). Для идентификации клеток использовали следующие моноклональные антитела: CD14, меченые APC («e-Biosciences»), CD45, меченые ECD («e-Biosciences»), CD282 (TLR2) и CD 284 (TLR4), меченые Alexa Fluor 488 («e-Biosciences»), изотипический контроль Mouse IgG2a, меченые Alexa Fluor 488 («e-Biosciences»). Среднюю интенсивность флуоресценции рассчитывали, как отношение интенсивности флуоресценции образца и изотипического контроля.

Содержание IL-33, IL-4 TGF- β 1, TSLP, IL1-b, IL-1-ra, IL-6, IL-8, IL-10, TNFa и IL-28B в назальных смывах и сыворотке крови оценивали в мультиплексном иммунофлюоресцентном анализе. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6.

Положения, выносимые на защиту и 7 выводов, полностью соответствуют полученным результатам, что свидетельствует о достижении поставленной цели и решении заявленных в работе задач.

Обоснованность новизны научных результатов

Впервые выявлены дефекты в мукозальном иммунитете носовой

полости, характеризующиеся высоким уровнем экспрессии генов рецепторов TLR2, TLR4, TLR9, снижением экспрессии гена противомикробного пептидов HBD1 и противовирусного цитокина IL-28B у детей с бронхиальной астмой средней и тяжелой степенью тяжести. У детей с тяжелой степенью астмы в смывах из полости носа выявлено повышение уровня TSLP и IL-33, играющих важную роль в развитии аллергического воспаления. Зарегистрирован дисбаланс факторов врождённого иммунитета на основе повышения содержания провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IL-6), и противовоспалительных (IL-1ra, IL-10, IL-4) цитокинов в назальных смывах. Выявлена прямая корреляция указанного дисбаланса с тяжестью бронхиальной астмы.

Более выражены и информативны изменения врожденного иммунитета у больных бронхиальной астмой на локальном уровне - в слизистой оболочке полости носа по сравнению с системным.

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в качестве теоретической базы по направлениям – патофизиология иммунной системы, аллергология, клеточная биология, иммунология, молекулярная биология и биотехнология (использование результатов исследования для разработки перспективных иммуноактивных препаратов на основе цитокинов и хемокинов). Эти направления могут быть реализованы в медицинских клинических учреждениях и биологических институтах, специализирующихся на изучении молекулярной биологии и иммунологии, а также в научных лабораториях, занимающихся как фундаментальными, так и прикладными исследованиями в соответствующих областях.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом,
замечания по оформлению диссертации**

В целом, диссертация Брагвадзе Б.Г. является законченным исследованием по содержанию, отличается хорошим стилем изложения. Работа построена по традиционной структуре, состоит из введения, трех

глав, заключения, выводов списка сокращений и списка литературы. Описание дизайна исследования выполнено грамотно, в виде наглядного алгоритма. Результаты представлены в виде информативных, легко читаемых графиков. Обсуждение результатов исследования содержит анализ полученных данных. Основываясь на литературных данных и собственных результатах, автор приходит к логичным обобщающим выводам, подтверждающим корректность высказываемых предположений. Основные положения и выводы диссертационной работы развивают и дополняют известные теоретические положения относительно иммунорегулирующего действия TSLP и интерлейкинов на реакции врожденного иммунитета.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к работе не имею.

1. Какие последние данные известны о TGF- β в формировании бронхиальной астмы?
2. Какими клетками синтезируется TSLP и какова его роль в патогенезе бронхиальной астмы?

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Брагвадзе Беллы Гелаевны «Особенности врожденного иммунитета у детей с бронхиальной астмой» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Ганковской Людмилы Викторовны и академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Намазовой-Барановой Лейлы Сеймуровны, содержащей новое решение актуальной научной задачи по установлению роли TSLP и широкого спектра

про- и противовоспалительных интерлейкинов в регуляции врожденного иммуногенеза, имеющей существенное значение в области патофизиологии иммунозависимых заболеваний.

Представленная диссертационная работа соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. от 21.04.2016, № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент

профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»

Минздрава России,

доктор медицинских наук

профессор

Гариб Фируз Юсупович

«18» 01 2019 г.

Данные об авторе отзыва:

Гариб Фируз Юсупович – доктор медицинских наук (14.00.36), профессор (14.00.36), профессор кафедры иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», адрес 123993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, телефон: +790906503969, e-mail: fgarib@yandex.ru.

Подпись Ф.Ю. Гариба заверяю

Ученый секретарь
ФГБОУ ДПО РМАНПО
Минздрава России



Л.М. Савченко