

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора РАН, Зыкова Кирилла Алексеевича на диссертацию Огурцовой Анастасии Дмитриевны на тему: «Анализ экспрессии и функциональной активности Toll-подобных рецепторов у больных бронхиальной астмой», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Работа Огурцовой Анастасии Дмитриевны посвященная изучению экспрессии и функциональной активности Toll-подобных рецепторов у больных бронхиальной астмой несомненно **актуальна**. В последние десятилетия увеличилось количество пациентов, страдающих бронхиальной астмой. Остается много нерешенных задач, касающихся подходов к контролю данного заболевания. Влияние факторов внешней среды, включая аллергены, различные вирусные и бактериальные инфекции, а также их сочетания, приводит к усугублению тяжести заболеваний и способствует увеличению частоты обострений.

В основе любого иммуноопосредованного заболевания, в том числе бронхиальной астмы, лежит распознавание антигена клетками врожденного иммунитета, которое на начальном этапе осуществляется за счет паттерн-распознающих рецепторов. В связи с этим автором была поставлена цель, оценить экспрессию и функциональную активность TLR2 и TLR4 у больных бронхиальной астмой в зависимости от формы и степени тяжести заболевания. Для достижения поставленной цели в работе проводилось комплексное исследование Toll-подобных рецепторов на клетках периферической крови больных бронхиальной астмой на уровне экспрессии генов, поверхностных молекул и функциональной активности этих

рецепторов. Изучение роли Toll-подобных рецепторов может в дальнейшем привести к новым подходам прогнозирования развития осложнений, определению новых терапевтических мишеней. Проведенное исследование вносит вклад в фундаментальные основы клинической иммунологии и аллергологии и является перспективной и актуальной научной задачей.

Научная новизна работы

Научная новизна выполненной работы заключается в том, что автором была проведена оценка экспрессии и функциональной активности TLR2 и TLR4 в мононуклеарных клетках больных с астмой с преобладанием аллергического компонента, а также у больных неаллергической и смешанной бронхиальной астмой как по сравнению со здоровыми донорами, так и между исследуемыми группами.

На основании полученных результатов автором было сделано предположение, что у больных бронхиальной астмой уже на уровне клеток периферической крови наблюдается гиперактивация TLR2 и TLR4: увеличивается экспрессия генов TLR2 и TLR4 и их белковых молекул. Показано, что наибольшая экспрессия TLR4 на моноцитах периферической крови характерна для больных неаллергической бронхиальной астмой.

Автор исследовал индуцированную лигандами TLR2 и TLR4 продукцию мононуклеарными клетками про- и противовоспалительных цитокинов, а также функциональную активность TLR2 и TLR4 по индуцированной продукции мононуклеарными клетками ФНО α . Продемонстрировано, что для больных бронхиальной астмой характерны изменения функциональной активности TLR2 и TLR4 в зависимости от формы и степени тяжести заболевания: наибольшая функциональная активность характерна для больных неаллергической формой бронхиальной астмы. Также показано, что у больных аллергической бронхиальной астмой усиление тяжести заболевания сопровождается более высокой TLR2 и TLR4-

индуцированной продукцией ФНО α . При этом у больных аллергической бронхиальной астмой выше, чем в остальных группах уровень индуцированной продукции ИЛ-10.

Новыми и интересными являются данные о том, что аллерген клеща домашней пыли при культивировании с мононуклеарными клетками периферической крови приводит к увеличению продукции ФНО α как у больных бронхиальной астмой, так и у здоровых доноров. Схожие результаты автор получил, исследуя совместное действие аллергена клеща домашней пыли с липополисахаридом.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-практическом уровне с применением современных, высокоинформативных методов исследований. Работа проведена на достаточном количестве клинического материала (77 больных контролируемой бронхиальной астмой, 30 здоровых лиц). Результаты подвергались статистической обработке с использованием адекватных методов.

Объем проведенных исследований соответствует поставленным в диссертации целям и задачам. Выводы, представленные автором, отражают основные результаты исследования и соответствуют поставленным задачам. Проведенное исследование, статистическая обработка данных обеспечивают достоверность полученных результатов и выводов. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 7 в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России.

Практическая значимость

Полученные автором результаты сопоставляются с мировыми научными данными с привлечением множества литературных источников и представляют большой научный и практический интерес для прогнозирования риска развития осложнений у больных бронхиальной астмой и формирования смешанного эндотипа астмы. В перспективе возможно использование полученных результатов для обоснования проведения дальнейших исследований по оценке эффективности проводимой терапии, для разработки персонализированных подходов к терапии пациентов с бронхиальной астмой антагонистами TLR2 или TLR4. Особенный интерес представляют сведения о том что, один из наиболее распространенных аллергенов — аллерген домашней пыли, является индуктором продукции клетками периферической крови ФНО α не только для людей, страдающих аллергическим заболеванием, но и для здоровых доноров.

Данное исследование соответствует современным тенденциям персонализированной медицины, что может помогать в дальнейшем не только осуществлять индивидуальный прогноз течения, но и способствовать дальнейшему выбору адекватной терапии, а также вносит существенный вклад в фундаментальные представления об участии врожденного иммунитета в формировании бронхиальной астмы. Достоверность представленных в диссертационном исследовании результатов и их новизна не вызывают сомнения.

Объем и структура диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, собственных результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы, содержит 251 источник (4

отечественных, 247 иностранных). Текст иллюстрирован 7 таблицами и 37 рисунками. Объем и оформление диссертации соответствуют предъявленным к кандидатским диссертациям требованиям.

Во «Введении» четко сформулированы актуальность и новизна диссертационного исследования, цели, задачи исследования.

«Обзор литературы» логично построен, посвящен подробному рассмотрению роли факторов врожденного иммунитета и Toll-подобных рецепторов в патогенезе аллергических заболеваний.

В главе «Материалы и методы» указаны критерии включения исследуемых лиц в диссертационную работу, представлен дизайн эксперимента и подробно описаны применяемые в работе методы: метод полимеразной цепной реакции с целью оценки экспрессии мРНК TLR2 и TLR4, проточной цитофлуорометрии с целью определения количества моноцитов, имеющих на поверхности TLR2 и TLR4, интенсивность экспрессии TLR2 и TLR4, метод выделения и культивирования мононуклеарных клеток и метод иммуноферментного анализа для дальнейшей оценки концентрации цитокинов в супернатантах культур клеток.

Глава «Результаты и обсуждения» изложена логично и последовательно, хорошо иллюстрирована. Проведен анализ полученных данных, подтверждающих вклад исследуемых TLR2 и TLR4 в патогенез неаллергической, смешанной и аллергической БА. Автор обсуждает полученные результаты, ссылаясь на данные мировой литературы.

В главе «Заключение» автор резюмирует полученные данные для каждой исследуемой группы пациентов, сопоставляет с имеющимися данными литературы, обсуждает их.

Автором сформулировано 6 выводов и дано 2 практические рекомендации. Выводы и практические рекомендации полностью соответствуют цели и поставленным задачам.

Опубликованные работы и **автореферат** полностью отражают основные положения диссертации. В автореферате в полном объеме отражены основные положения диссертации, выводы и практические рекомендации.

Замечания по работе

Принципиальных замечаний к работе не имею. Представляется целесообразным более подробно обсудить ограничения работы, связанные с гендерными особенностями формирования групп сравнения. При общей положительной оценке работы следует отметить ряд стилистических неточностей, которые не снижают общей ценности выполненного исследования.

Заключение по работе

Представленная диссертация, выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Хоревой Марины Викторовны и доктора медицинских наук, профессора Латышевой Татьяны Васильевны, является законченной научно-квалификационной работой. На основании выполненных исследований разработаны теоретические положения, содержащие решение актуальных задач по изучению роли факторов врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы, что имеет существенное значение для современной клинической иммунологии и аллергологии.

Все вышесказанное позволяет заключить, что диссертационная работа Огурцовой Анастасии Дмитриевны на тему «Анализ экспрессии и

функциональной активности Toll-подобных рецепторов у больных бронхиальной астмой», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г, №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (14.01.25 – пульмонология), профессор РАН, заместитель директора по научной и инновационной работе ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России,

К.А. Зыков

Личную подпись К.А. Зыкова заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России
к.м.н. Дажилевская



Ученый секретарь ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России
23.01.2019

Адрес организации: 115682, Москва, Ореховый бульвар, дом 28

E-mail: pulmo@fmbamail.ru

Тел.: 8(495)395-05-11