

## ОТЗЫВ

официального оппонента, профессора кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, доктора медицинских наук Ляминой Светланы Владимировны на диссертацию Тарасовой Маргариты Валерьевны «Медиаторы иммунной системы и активность нейтрофилов при atopическом дерматите», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – «Патологическая физиология»

### Актуальность исследования

Актуальность проблемы atopического дерматита (АД) в последние годы приобретает особое значение в связи с тенденцией к неуклонному росту и увеличению частоты резистентных к лечению форм. АД – одно из наиболее распространенных воспалительных заболеваний кожи, в патогенезе которого несомненна значимость дисбаланса в системе Th1/Th2 иммунного ответа, изменений со стороны как системы врожденного иммунитета, так и адаптивного иммунного ответа, что обуславливает особенности формирования иммунологических фенотипов заболевания. В патогенезе заболевания значима не только роль atopии, но и эффекты высвобождающихся медиаторов воспаления: цитокины, нейропептиды и гистамин поддерживают уже имеющееся аллергическое воспаление. Роль цитокинов заключается в обеспечении согласованного действия иммунной системы, регулирующей направленность иммунного ответа у больных atopическим дерматитом. В то же время нет единой точки зрения, касающейся количественного содержания цитокинов при различных клинических формах, стадиях и тяжести данного заболевания.

В последнее время особое внимание уделяется роли лейкоцитарных сериновых протеаз в целом, и эластазы в частности, при различных заболеваниях кожи, в том числе при АД. Характерной особенностью лейкоцитарной эластазы является ускоренный гидролиз различных белков в связи с широкой субстратной специфичностью, что обуславливает ее значимую роль в деструктивных изменениях кожи как при видимых поражениях, так и на участках кожи без видимых проявлений. Повышение активности эластазы может быть вызвано снижением количества ее ингибиторов, в частности  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора

( $\alpha$ 1-ПИ), что приводит к непосредственному повреждению тканей. Поэтому проведенное автором определение критериев оценки активности сериновой протеазы нейтрофилов – эластазы и активности  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора в зависимости от тяжести течения является актуальным.

Диссертация Тарасовой М.В. посвящена изучению функциональной активности нейтрофилов в развитии и течении атопического дерматита, в том числе, анализу активности кислородного взрыва и фагоцитоза, в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующей грибковой или бактериальной контаминации у больных АД, изучению влияния медиаторов иммунной системы на особенности развития и течения заболевания и определению критериев оценки активности сериновой протеазы нейтрофилов – эластазы и активности  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора в зависимости от тяжести течения.

Актуальность диссертационного исследования М.В. Тарасовой определяется не только теоретическим интересом к уточнению патогенеза атопического дерматита, но также и задачей комплексного анализа особенностей функциональной активности нейтрофилов; деструктивных изменений при атопическом дерматите как следствия воздействия эластазы; комплексного изучения содержания противовоспалительных и провоспалительных цитокинов при различном клиническом течении заболевания.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций диссертации Тарасовой М.В. подтверждается грамотно спланированным дизайном исследования, выполненным на достаточном объеме представленного материала, включающего результаты обследования 144 пациентов с АД и 32 пациента контрольной группы. Исследование проведено с использованием современных методик и стандартизованных тест-систем, что позволяет сделать заключение о валидности полученных данных. Кроме того, автором применен статистический анализ, в том числе, с использованием непараметрических методов для небольших выборок.

Научные положения, выводы и рекомендации соответствуют поставленным задачам и имеют научное подтверждение. Выводы четко сформулированы и логично вытекают из результатов проведенного исследования. Полученные результаты позволили полностью раскрыть положения, выносимые соискателем на защиту. На основании результатов исследования выдвинуты новые научные положения и предложены конкретные практические рекомендации.

### **Научная новизна полученных результатов, положений, выводов, рекомендаций**

Автором впервые проведено комплексное изучение содержания противовоспалительных и провоспалительных цитокинов у пациентов с атопическим дерматитом при обострении заболевания и во время ремиссии, что позволило получить новые данные о дисрегуляции реципрокных отношений Th1/Th2-субпопуляций лимфоцитов.

Впервые изучены и определены критерии оценки активности сериновой протеазы нейтрофилов - эластазы в зависимости от тяжести течения атопического дерматита и изменение активности  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора, что позволяет автору утверждать, что положительная корреляция между индексом SCORAD и активностью  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора направлена на ограничение деструктивных процессов, а отрицательная корреляционная связь между индексом SCORAD и активностью  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора, свидетельствует об истощении компенсаторного потенциала.

Впервые определена зависимость генерации супероксидного аниона нейтрофилами больных атопическим дерматитом от тяжести течения заболевания и степени распространённости процесса. Впервые измерен уровень генерации супероксидного аниона нейтрофилов у больных атопическим дерматитом под действием рецепторзависимого стимула (fMLP) и в ответ на прямой активатор кислородного взрыва – форболовый эфир (PMA).

Впервые выявлены разные уровни активности нейтрофилов в зависимости от наличия или отсутствия у больных атопическим дерматитом сопутствующей грибковой или бактериальной контаминации. Полученные результаты позволяют утверждать, что у больных атопическим дерматитом наличие сопутствующей

грибковой контаминации дрожжами *Rhodotorula spp* снижает фагоцитарную активность нейтрофилов.

### **Оценка практической значимости полученных результатов**

Научная значимость диссертационной работы не вызывает сомнений и состоит в выявлении новых фундаментальных знаний о функциональной активности нейтрофилов при различном клиническом течении и тяжести атопического дерматита.

Не вызывает сомнения практическая значимость работы, так как полученные результаты вносят весомый вклад в понимание процессов патогенеза АД. Полученные в диссертационном исследовании данные имеют не только теоретическое, но и прикладное значение, так как открывают новые возможности для улучшения диагностики и разработки патогенетического лечения. Продемонстрированная автором зависимость функциональной активности нейтрофилов от наличия или отсутствия сопутствующей грибковой или бактериальной контаминации у больных АД позволяет рассматривать полученные данные в качестве возможной основы для разработки новых высокоэффективных комбинированных препаратов для терапии атопического дерматита. Новый метод измерения активности лейкоцитарной эластазы и  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора, может быть рекомендован для определения качества состояния деструктивных процессов и антипротеолитической (антидеструктивной) системы у пациентов с АД.

### **Полнота изложения основных результатов диссертационной работы**

#### **в научной печати**

По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из которых 11 представлены статьями в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования материалов диссертационных исследований. Основные результаты диссертационной работы доложены на российских и зарубежных конгрессах и конференциях. Автореферат в полной мере соответствует структуре диссертации, отражая все полученные автором результаты.

## Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация Тарасовой М.В. представлена на 145 страницах машинописного текста. В работе представлены все необходимые по требованиям ВАК разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы». Диссертационная работа аккуратно оформлена и хорошо иллюстрирована, содержит 13 рисунков и 16 таблиц. В списке цитируемой литературы приведено 184 источника, из которых 35 российских и 149 зарубежных источника.

В разделе «Введение» сформулированы актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология исследования, положения, выносимые на защиту и личный вклад автора.

Глава «Обзор литературы» дает возможность ознакомиться с современным эпидемиологическим состоянием атопического дерматита, патогенетической концепцией. В обзоре литературы дана общая характеристика рассматриваемой в работе проблемы, приводится детальное описание имеющихся на сегодня подходов к изучению функциональной активности нейтрофилов, а также иммунных изменений при атопическом дерматите, описана роль сериновых протеаз и их ингибиторов в патогенезе заболевания.

В главе «Материалы и методы» представлены методики определения уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных атопическим дерматитом, приведены данные об использованных иммуноферментных тест-системах. Подробно охарактеризованы методики определения активности лейкоцитарной эластазы и  $\alpha 1$  протеиназного ингибитора. Проведена оценка спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. В качестве индуктора хемилюминесценции автор использовала фактор некроза опухолей, дрожжи *Candida tropicalis* и опсонизированный зимозан. Подробно описан метод количественного измерения кислородного взрыва нейтрофилами периферической крови при внесении форболмириостат-ацетата (PMA) или Nformyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fmlp). Автором описаны подходы, позволившие оценить процент нейтрофилов периферической крови человека, фагоцитировавших клетки дрожжей *Rhodotorula spp.*, на основании обработки данных проточной цитофлуориметрии. В

разделе «Статистическая обработка результатов» приведены используемые методы статистического анализа, соответствующие современному уровню. Таким образом, работа выполнена на высоком методическом уровне.

В главе 3 подробно представлена клиническая характеристика пациентов с атопическим дерматитом различного клинического течения и степени тяжести с учетом современных подходов, приведена сравнительная характеристика показателей клеточного иммунитета при АД в сравнении с показателями клинически здоровых лиц.

Глава 4 посвящена изучению системы цитокинов у больных атопическим дерматитом в сыворотке крови с учетом значений индекса SCORAD. Установлено, что у пациентов с АД различной степени тяжести прослеживается тенденция к повышенной продукции противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13) при обострении заболевания и повышению синтеза провоспалительных цитокинов (ИНФ $\gamma$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-12) во время ремиссии. Определены коэффициенты корреляции между величиной индекса SCORAD и уровнями определяемых цитокинов во время обострения АД.

В главе 5 подробно представлены собственные результаты изучения интенсивности деструктивных процессов и активности антидеструктивной системы у больных атопическим дерматитом. Представлены результаты оценки взаимосвязи между активностью лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора ( $\alpha$ 1-ПИ) у пациентов с различной тяжестью течения АД и индексом SCORAD; дана характеристика интенсивности деструктивных процессов и состояния антипротеолитического (компенсаторного) потенциала организма.

Шестая глава содержит результаты изучения функциональной активности нейтрофилов на основании показателей спонтанной и индуцированной зимозаном хемилюминесценции клеток крови больных АД в зависимости от тяжести клинического течения согласно индексу SCORAD, а также с учетом контаминации кожи. Приведены собственные данные особенностей фагоцитарной активности нейтрофилов при использовании в качестве объекта штаммов дрожжей *Rhodotorula spp.*; особенности генерации супероксидного аниона нейтрофилами и экспрессии рецептора TREM-1 у пациентов АД.

Результаты исследования, представленные в главах 3-6, наглядно проиллюстрированы 13 рисунками и 16 таблицами.

В обсуждении автор анализирует, обобщает и сопоставляет полученные результаты в ходе исследования с результатами отечественных и зарубежных исследований по данной проблеме.

Выводы диссертационной работы соответствуют ее цели и задачам, основаны на полученных достоверных результатах исследования.

На основании полученных результатов, достоверность которых не вызывает сомнений, диссертантом сформулированы основные научные положения.

Практические рекомендации сформулированы лаконичны и конкретно, вытекают из результатов исследований, полученных автором, и носят прикладной характер.

Список литературы составлен в соответствии с библиографическими требованиями.

Работа представляет собой целостное завершённое научное исследование, решающее актуальную научно-практическую задачу комплексного анализа особенностей функциональной активности нейтрофилов, деструктивных поражений кожи при atopическом дерматите как следствия воздействия эластазы; комплексного изучения содержания противовоспалительных и провоспалительных цитокинов при различном клиническом течении заболевания.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации и объективно отражают основное содержание диссертации.

### **Рекомендации по использованию результатов исследования**

#### **и выводов диссертации**

Разработанные положения и выводы позволяют дополнить и систематизировать решение задач по уточнению особенностей патогенеза atopического дерматита при различных клинических формах и степени тяжести заболевания с учетом состояния деструктивных процессов и антипротеолитической (антидеструктивной) системы. Полученные научные данные могут быть использованы в развитии дальнейших направлений в тематике изучения

иммунологических особенностей развития атопического дерматита и клинической практике для формирования тактики ведения и лечения пациентов с АД.

Принципиальных замечаний к работе нет. В процессе ознакомления с работой возникли вопросы:

1. Можно ли рассматривать исследованные Вами особенности изменения цитокинового профиля как диагностические критерии и предикторы изменения течения атопического дерматита?
2. Проводился ли анализ изучаемых параметров у лиц исследуемых групп на фоне терапии или без лечения?
3. Учитывалось ли наличие в анамнезе у исследуемой категории лиц аутоиммунных заболеваний, иных острых или хронических заболеваний, что могло повлиять на особенности функциональной активности нейтрофилов? Каковы были критерии исключения пациентов из исследования?

Заданные вопросы носят уточняющий характер и не снижают теоретического и практического значения диссертационной работы.

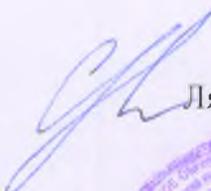
### **Заключение**

Диссертация Тарасовой Маргариты Валерьевны «Медиаторы иммунной системы и активность нейтрофилов при атопическом дерматите», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология, является законченной научно-квалификационной работой. Все представленные выводы обоснованы и базируются на полученных автором материалах и результатах, их обработке и интерпретации. Оформление работы отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Исследование Тарасовой М.В. посвящено актуальной и важной проблеме для современного общества, проведено с использованием обширного набора современных методов, содержит уникальные результаты, исходя из которых, автор формулирует выводы и научно-практические рекомендации.

По актуальности, новизне и достоверности полученных данных, научно-практической значимости исследования, методическому уровню работы

диссертация соответствует критериям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней и присвоения ученых званий», утвержденным постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №1168 от 01.10.2018 г.), а ее автор, Тарасова Маргарита Валерьевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология.

Профессор кафедры патологической физиологии  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Московский государственный  
Медико-стоматологический университет  
имени А.И. Евдокимова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
доктор медицинских наук

 Лямина Светлана Владимировна

«23» ноября 2020 года.

Подпись доктора медицинских наук Ляминой Светланы Владимировны заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО  
МГМСУ им. А.И. Евдокимова  
Минздрава России  
Доктор медицинских наук, профессор

  
 Ю.А. Васюк

Сведения об авторе отзыва:

Светлана Владимировна Лямина, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Адрес: 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1  
Телефон: 8 (495) 609-67-00; e-mail: svlvs@mail.ru