

## ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Балмасовой Ирины Петровны на диссертационную работу Пантелеева Александра Владимировича «Особенности реакций клеточного иммунитета, специфичных по отношению к антигенам микобактерий, у больных туберкулезом легких», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология**

**Актуальность темы исследования.** Принято считать, что Т-хелперы 1-го типа (Th1) являются основной популяцией, обеспечивающей протекцию при туберкулезе. Однако, исследования последних лет показывают, что их роль при туберкулезной инфекции далеко не так однозначна. С одной стороны, позитивная роли этих клеток в защитных реакциях при данном заболевании сомнений не вызывает. Так, показано, что у детей при мутациях в генах «IL-12/IFN $\gamma$ », обеспечивающих формирование и функционирование Th1, отмечается увеличение риска развития туберкулеза и других микобактериальных инфекций. На экспериментальном уровне получено, что делеция генов, связанных с продукцией IFN $\gamma$  как основного цитокина Th1 и рецепторов к нему, приводит к тяжелому течению туберкулезной инфекции с выраженным некрозом легочной ткани и нарушением образования гранулем. С другой стороны, в ряде экспериментальных работ было показано, что протективная активность CD4<sup>+</sup> лимфоцитов не связана с их способностью продуцировать IFN $\gamma$ , а гиперпродукция цитокина, наоборот, могла оказывать патологическое воздействие. Поскольку у подавляющего числа больных туберкулезом, которые попадают под наблюдение врачей-фтизиатров, нет генетического дефицита в параметрах иммунного ответа с участием Th1, то остается неясным, существует ли какая-то взаимосвязь между эти иммунологическими показателями и тяжестью туберкулезного процесса, а также в какой степени этот факт влияет на необходимость иммуномодулирующей терапии у больных туберкулезом легких. Решение всех этих вопросов весьма актуально для фтизиатрии.

Другим актуальным аспектом исследования иммунологии туберкулеза является разработка методов определения активности туберкулезной инфекции, поскольку пока существующие иммунологические методы позволяют выявлять наличия инфицирования микобактериями туберкулеза, но не оценивать активность инфекционного процесса, что особенно важно у больных туберкулезом без выраженного бактериовыделения. Использование иммунологических подходов для характеристики степени активности туберкулезной инфекции у таких пациентов могло бы стать дополнительным диагностическим критерием для врачей-фтизиатров.

В связи с указанными проблемами актуальность диссертационной работы Пантелеева А.В., посвященной изучению особенностей реакций клеточного иммунитета у больных туберкулезом легких и анализу взаимосвязи между количественными параметрами участия Т-хелперов 1-го типа и клеток врожденного иммунитета, а также особенностями течения инфекционного процесса у больных туберкулезом легких сомнений не вызывает.

**Степень новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Новизна диссертационной работы Пантелеева А.В., прежде всего определяется многопараметрическим анализом взаимосвязи показателей тяжести туберкулеза, оценённых по пяти различным проявлениям, и 53 иммунологических показателей. Оцениваемые показатели тяжести туберкулеза включали как состояние патогена (наличие микобактерий туберкулеза или их ДНК), так и состояние организма-хозяина, которое включало детальную оценку распространенности поражения легочной ткани, наличия и степени деструкции легочной ткани, клинической тяжести заболевания в системе ранговой оценки и клинических форм туберкулеза. Иммунологические показатели включали в себя процентное и абсолютное содержание антиген-специфичных популяций Th1, продуцирующих TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  и IL-2, антиген-неспецифичных популяций лимфоцитов и лейкоцитов. С использованием разработанных градаций была проведена оценка взаимосвязи отдельных показателей тяжести туберкулезного процесса между собой. Были выявлены два кластера: первый включал степень



деструкции легочной ткани, степень бактериовыделения и распространенность поражения легочной ткани, второй - клиническую тяжесть заболевания и клинические формы туберкулеза. По данным соискателя, клиническая тяжесть туберкулеза не зависела от показателей тяжести первого кластера, что позволяет предположить разнообразие механизмов, лежащих в основе разных показателей тяжести заболевания. В ходе проведенного анализа Пантелеевым А.В. были установлены иммунологические корреляты тяжелого течения туберкулеза, которыми стали: для деструкции легочной ткани и высокой степени бактериовыделения - высокое содержание в крови палочкоядерных нейтрофилов, для клинической тяжести заболевания - низкое содержание лимфоцитов. Кроме того, Пантелеев А.В. также, впервые показал отсутствие ассоциации количественных параметров антиген-специфичного ответа Th1 и показателей тяжести туберкулёзного процесса у больных.

В диссертационной работе Пантелеева А.В. впервые в рамках одного исследования проведено сравнение информативности нескольких современных методов оценки активности туберкулезной инфекции, основанных на детекции антиген-реактивных лимфоцитов, циркулирующих в периферической крови. Эти способы включали оценку степени дифференцировки антиген-специфичных лимфоцитов, продуцирующих TNF $\alpha$  и/или IFN $\gamma$  по потере клетками экспрессии маркера CD27 и оценку содержания антиген-специфичных лимфоцитов по различной продукции цитокинов TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  и IL-2. Наибольшей чувствительностью и специфичностью (более 70%)обладали: (1) определение степени дифференцировки антиген-реактивных CD4+ лимфоцитов, детектируемых по продукции IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ , (2) определение процента CD4+ лимфоцитов, продуцирующих IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  и не продуцирующих IL-2. Чувствительность и специфичность обоих способов была больше 70%.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость представленной работы заключается в получении новых данных о иммунопатогенезе туберкулеза: результаты, полученные соискателем, показывают ключевую роль различных патогенетически значимых реакций, но

не ключевой роли дефицита антиген-специфичного ответа как основы для тяжелого течения туберкулеза, как это считалось ранее.

Результаты, полученные соискателем, представляют и практический интерес. Существующие сейчас иммунологические методы выявления туберкулезного инфицирования, так называемые методы IGRAs (T-SPOT.TB и QuantiFERON-TBGold/Plus), позволяют определить наличие инфицирования *M. tuberculosis*, но не позволяют выявить активность туберкулезной инфекции. Следует отметить, что большие трудности представляет диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза у больных при отсутствии бактериовыделения или ДНК *M. tuberculosis* в мокроте, а также у больных без выделения мокроты. В связи с этим в настоящее время ведется активный поиск методов диагностики туберкулеза с использованием более доступного биологического материала – периферической крови. В работе Пантелеева А.В. оценена диагностическая ценность предложенных в последнее время иммунологических подходов к выявлению активности туберкулезного процесса с использованием образцов крови. Кроме того, соискатель разработал модификацию подхода с определением степени дифференцировки (по экспрессии CD27<sup>low/-</sup>) антиген-реактивных CD4<sup>+</sup> лимфоцитов как продуцентов TNF $\alpha$  и/или IFN $\gamma$ , что может явиться дополнительным методом диагностики туберкулеза в сложных случаях.

**Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях.** Достоверность результатов диссертационного исследования не вызывает сомнений, так как работа выполнена на достаточно большом объеме материала при использовании современных методов статистического анализа с учетом поправок на множественное сравнение. При выполнении диссертационной работы были использованы разнообразные иммунологические методы: проточная цитометрия, мультиплексный и ИФА анализы.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения и содержание диссертации. По материалам диссертационного исследования автором опубликованы 12 печатных работ, из них 4 тезиса и 5



статей в рецензируемых журналах, что является достаточным по требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям, предъявляемым на соискание учёной степени кандидата наук.

### **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации.**

Диссертация Пантелеева А.В. изложена на 110 страницах машинописного текста и имеет традиционную структуру, включающую введение, обзор литературы, 4 главы собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список литературы, включающий 238 источников (16 отечественных и 222 иностранных авторов). Диссертационная работа иллюстрирована 14 таблицами, 15 рисунками и 1 приложением, облегчающими восприятия результатов исследования.

Во **введении** автор обосновывает актуальность темы исследования и характеризует её разработанность. В работе четко сформулированы цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, а также основные положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** состоит из 6 подразделов, описывающих накопленные в литературе сведения о значении CD4+ лимфоцитов 1-го типа при туберкулезе легких и экспериментальной туберкулезной инфекции. Пантелеев А.В. приводит подробную характеристику состояния современных исследований по значению полифункционального профиля антиген-специфичных лимфоцитов для определения активности туберкулеза.

В главе **материалы и методы** Пантелеев А.В. подробно рассказывает о проводимых исследованиях методами проточной цитометрии, мультиплексного и иммуноферментного анализа. Приводится характеристика объектов исследования с указанием четких критериев их включения в исследование и исключения из исследования.

**Результаты** собственных исследований описаны в четырех разделах. Первый раздел описывает показатели тяжести туберкулеза, оцененные у больных, и их взаимосвязь друг с другом. Второй раздел посвящен сравнению антиген-специфичного ответа Th1 у объектов исследования – больных

туберкулезом и здоровых людей. Третий раздел посвящен характеристике степени дифференцировки и истощения антиген-реактивных популяций Th1 у больных туберкулезом легких. Соискателем показано, что дифференцировка и функциональное истощение лимфоцитов представляют собой два не связанных между собой процесса. Четвертый раздел описывает корреляционный анализ исследованных иммунологических показателей и показателей тяжести туберкулезного процесса с выявлением основных иммунологических коррелятов тяжелого течения туберкулеза.

В главе **Обсуждение** Пантелеев А.В. анализирует и подробно обсуждает полученные результаты в свете данных, полученных другими исследователями.

**Соответствие специальности.** Содержание диссертационной работы соответствует специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология, по которой она предоставляется к защите. Автореферат и опубликованные работы отражают основные положения и выводы диссертации.

**Замечания по диссертационной работе в целом.** Принципиальных замечаний, влияющих на оценку качества выполнения диссертационного исследования, нет, хотя, как и в любой работе, имеются опечатки, неудачные выражения, иногда встречаются излишне категоричные суждения.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа *Пантелеева Александра Владимировича* на тему «Исследование особенностей реакций клеточного иммунитета, специфичных по отношению к антигенам микобактерий, у больных туберкулезом легких» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук *Лядовой Ирины Владимировны*, содержащей новое решение актуальной научной задачи – характеристику особенностей специфичных к антигенам микобактерий реакций клеточного иммунитета у больных туберкулезом легких, имеющей существенное значение для иммунологии. Диссертационная работа по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует



требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335, от 02 августа 2016 года №748, от 29 мая 2017 года №650, от 28 августа 2017 года №1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, *Пантелеев Александр Владимирович*, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

**Официальный оппонент,**  
заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний Научно-исследовательского медико-стоматологического института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология), профессор

 Балмасова Ирина Петровна

127473, г. Москва, Делегатская, д 20, стр.1.  
Тел.: +7 (495) 609-67-00, e-mail: [iri.balm@mail.ru](mailto:iri.balm@mail.ru)  
<http://www.msmsu.ru>

Подпись д.м.н., профессора Балмасовой Ирины Петровны заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор



Ю.А. Васюк

14 мая 2018 г.