

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России  
доктор биологических наук,  
Д.В. Ребриков



2018 года

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Пантелеева Александра Владимировича на тему: «Особенности реакций клеточного иммунитета, специфичных по отношению к антигенам микобактерий, у больных туберкулезом легких», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

### Актуальность темы исследования.

В последние годы в Российской Федерации эпидемическая ситуация по туберкулезу снижается, однако несмотря на это уровень заболеваемости продолжает оставаться достаточно высоким. Для предупреждения распространения туберкулеза требуются новые эффективные и специфичные методы его выявления и диагностики. Перспективными считаются методы, основанные на определении биомаркеров иммунного ответа хозяина. Их разработка требует понимания особенностей иммунореактивности хозяина и знания иммунологических процессов, развивающихся в ответ на инфекцию микобактериями туберкулеза.

В области иммунологии туберкулеза можно выделить ряд актуальных вопросов, имеющих непосредственное отношение к работе Пантелеева А.В. Значительная часть исследований в области туберкулеза у человека, посвящена сравнению иммунного ответа больных туберкулезом и людей с латентной туберкулезной инфекцией, при этом остается мало исследованной взаимосвязь

иммунологических показателей с конкретными проявлениями тяжести туберкулеза. Многочисленные исследования показывают важную роль лимфоцитов Т-хелперов 1 типа (Th1) в протекции при туберкулезе, однако остается неизученным, влияют ли количественные параметры ответа Th1 на отдельные проявления заболевания такие как бактериовыделение или деструкция легочной ткани. Проведенные исследования выявили ряд биомаркеров Т-клеточного ответа, которые потенциально могут быть использованы в диагностических целях, в частности, для оценки активности туберкулеза; однако возможность использования разных биомаркеров требует дальнейших исследований по их верификации и сравнительному анализу.

Работа Пантелеева А. В. посвящена сравнению показателей иммунного ответа у больных туберкулезом и здоровых людей, а также анализу взаимосвязи между особенностями течения туберкулеза и различными иммунологическими показателями, в том числе – количественными параметрами ответа Th1, и сравнению информативности различных биомаркеров Т-клеточного ответа, используемых для выявления активности туберкулеза.

Таким образом, тема диссертационной работы Пантелеева Александра Владимировича, посвященной выявлению взаимосвязи между различными иммунологическими показателями и тяжестью туберкулеза, является важной и актуальной.

**Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Новизна работы определяется использованными подходами и оригинальностью полученных результатов. В настоящее время для определения роли различных реакций иммунного ответа в протекции и патогенезе туберкулеза у человека основным подходом является сравнение иммунного ответа у больных туберкулезом, здоровых людей и людей с латентной туберкулезной инфекцией. В работе Пантелеева А.В. наряду с этим подходом, разработан и применен новый подход, заключающийся в анализе взаимосвязи отдельных параметров иммунного ответа и показателей тяжести туберкулеза. При этом для характеристики тяжести туберкулеза выделены и оценены пять отдельных проявлений заболевания:

деструкции легочной ткани, наличие микобактерий туберкулеза (или их ДНК) в мокроте и клиническая тяжесть заболевания. Проанализированные иммунологические параметры включали в себя процентное и абсолютное содержание популяций лейкоцитов, лимфоцитов, антиген-реактивных лимфоцитов Th1 и их функциональных субпопуляций - суммарно 53 иммунологических показателя. Такой детальный анализ особенностей течения туберкулеза и их взаимосвязи с большим набором иммунологических показателей в доступной литературе отсутствует и является новым. Новым является и анализ информативности использования биомаркеров Т-клеточного ответа в одном исследовании.

Применение описанного подхода (сравнения иммунологических показателей и показателей тяжести туберкулеза) позволило получить новые данные о значимости патологических реакций в определении тяжести туберкулеза. По данным соискателя тяжесть отдельных проявлений заболевания связана с изменением популяций лейкоцитов (антиген неспецифичных популяций клеток), а именно: степень деструкции легочной ткани и бактериовыделение ассоциированы с высоким содержанием палочкоядерных нейтрофилов; клиническая тяжесть заболевания - с низким содержанием лимфоцитов. Новизна этих данных заключается в идентификации конкретных проявлений туберкулеза, с которыми ассоциированы указанные иммунологические показатели. В работе также показано, что тяжесть туберкулеза не ассоциирована с количественными параметрами иммунного ответа Th1 и иммунный ответ Th1 у больных туберкулезом выше, чем у здоровых людей.

Помимо этого, в работе проведено сравнение нескольких способов определения активности туберкулеза, предложенных в последние годы и основанных на Т-клеточных биомаркерах. Данные методы были разработаны разными авторами, их сравнительная оценка на одной и той же когорте больных отсутствовала. Проведенные Пантелеевым А.В. исследования впервые сравнили информативность тестов в рамках одного исследования и выявили, что из сравниваемых тестов наибольшей чувствительностью и специфичностью для разделения больных туберкулезом и лиц, находящихся в контакте с инфекцией, обладали два. Первый

разделения больных туберкулезом и лиц, находящихся в контакте с инфекцией, обладали два. Первый тест основан на определении процента лимфоцитов CD4, продуцирующих TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>IL-2<sup>-</sup> (чувствительность и специфичность подхода составили 79% и 72%, соответственно); второй тест - на определении процента лимфоцитов CD27<sup>low/-</sup> в популяции антиген специфичных лимфоцитов CD4, продуцирующих TNF- $\alpha$  и/или IFN- $\gamma$  (чувствительность и специфичность подхода составили 79% и 78%, соответственно).

#### **Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки.**

Диссертационная работа Пантелеева А.В. выполнена в рамках плана научно-исследовательской работы фундаментальных научных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» (ФГБНУ «ЦНИИТ», НИР 0515-2015-0010 «Иммунологические методы в диагностике туберкулеза легких») в лаборатории биотехнологии отдела иммунологии.

#### **Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации.**

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы новые данные имеют научную и практическую значимость. Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на иммунопатогенез туберкулеза. Автором выявлены основные иммунологические корреляты таких важных проявлений туберкулеза как степень деструкции легочной ткани и степень бактериовыделения (содержание палочкоядерных нейтрофилов). Анализ Th1, которые считаются основной протективной популяцией при туберкулезе, показал, что, во-первых, тяжесть туберкулезного процесса не ассоциирована с их количественным содержанием, а во-вторых, у больных туберкулезом повышен ответ Th1. Эти данные имеют большое значение, поскольку показывают, что у большинства больных нет дефицита Th1, то есть стимуляция иммунного ответа нецелесообразна. Напротив, палочкоядерные нейтрофилы и процессы, приводящие к их накоплению, могут рассматриваться как потенциальные мишени для хозяин-ориентированной иммунотерапии.

С практической точки зрения значение имеют полученные автором данные о информативности исследованных иммунологических способов определения активности туберкулеза. Способы, обладающие наибольшей чувствительностью и специфичностью, могут лечь в основу методов диагностики туберкулеза.

Полученные автором результаты используются при выполнении НИР «Диагностика туберкулеза органов дыхания у больных терминальной хронической почечной недостаточностью до и после трансплантации почки» и при оценке активности туберкулезного процесса у больных, проходящих лечение в ФГБНУ «ЦНИИТ», в преподавании на курсах тематического усовершенствования врачей, ординаторов и аспирантов, проводимых в ФГБНУ «ЦНИИТ».

#### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях.**

Результаты, полученные в работе, подтверждены несколькими методами статистического анализа в том числе: непараметрическим тестом Крускал-Уоллиса с поправкой на множественные сравнения Бенджамина-Хохберга, непараметрическим тестом по Спирмену с поправкой на множественные сравнения Бенджамина-Хохберга, методом рандомизации данных с созданием псевдовыборок («бутстрэппинг анализ»), методом иерархической кластеризации и методом минимальных моделей.

Апробация работы состоялась на научной конференции отдела иммунологии ФГБНУ «ЦНИИТ» (протокол №1 от 26 июня 2017 года). Диссертантом опубликовано 12 печатных работ, из них 5 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях. Основные результаты работы представлены и обсуждены на 8 научно-практических конференциях.

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

Материалы диссертации изложены на 110 страницах машинописного текста. Рукопись написана в традиционной форме и включает в себя Введение, Обзор литературы, описание Материалов и методов, четыре подглавы Результатов собственных исследований, Обсуждение, Выводы, Практические рекомендации, Перспективы дальнейшей разработки темы, Список сокращений и Список

литературы, включающий в себя 238 источников, из них 16 отечественных работ и 222 работы зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 15 рисунками, 14 таблицами и 1 приложением.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты диссертационной работы Пантелеева А.В. по определению информативности иммунологических подходов, предложенных для оценки активности туберкулезной инфекции, могут быть использованы для создания и разработки теста дифференциальной диагностики туберкулеза и латентной туберкулезной инфекции. Данные о том, что тяжесть туберкулеза не связана с количественными показателями ответа Th1 и об отсутствии дефицита Th1 у больных туберкулезом показывают, что применение иммуностимулирующей терапии должно учитывать значения исходных показателей у больных. Данные о коррелятах тяжелого течения туберкулеза целесообразно учитывать при поиске мишеней и разработке методов хозяин-ориентированной терапии.

Тема диссертации, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Автореферат соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 и полностью отражает содержание диссертационной работы.

Результаты исследований Пантелеева А.В. обсуждены и отзыв одобрен на заседании кафедры иммунологии медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол №19 от 24 апреля 2018 г).

### **Заключение**

Диссертационная работа Пантелеева Александра Владимировича на тему «Особенности 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 – выявление взаимосвязей между показателями тяжести туберкулезного процесса и реакциями клеточного иммунитета у больных туберкулезом легких. По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований она соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённого 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 диссертационным работам 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.

Доктор медицинских наук (специальность 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология), профессор  
заведующая кафедрой иммунологии медико-биологического факультета  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской  
Федерации,



Ганковская Людмила Викторовна

117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1  
Тел.: +7 (495) 434-03-29, Факс: +7 (495) 434-61-29.  
Сайт <http://rsmu.ru> , e-mail: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru)

Подпись заведующей кафедрой иммунологии, профессора Ганковской Людмилы Викторовны заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации,

доктор медицинских наук  
доцент



 Милушкина Ольга Юрьевна