

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Балмасовой Ирины Петровны на диссертационную работу Курбатовой Ольги Владимировны тему «Состояние клеточного и гуморального иммунитета и функциональная активность лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни» представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика.

Актуальность темы исследования

Современные исследования в самых различных областях медицины позволяют уверенно утверждать о ведущей роли иммунной системы в патогенезе многих заболеваний. Учитывая сложность взаимодействий между элементами иммунной системы и механизмов кооперации иммунной системы с другими функциональными системами организма, на современном этапе развития медицины, требуется их детальное изучение при различных патологических состояниях. В последнее время имеются убедительные данные, что изменения внутриклеточного метаболизма - переключение энергообмена с окислительного фосфорилирования на гликолиз - регулируют процессы пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток. В связи с этим особую актуальность приобретает изучение состояния иммунной системы у пациентов с врожденными нарушениями обмена веществ.

Дети с гликогеновой болезнью относятся к наиболее сложной категории пациентов с наследственным заболеванием обмена углеводов. Изучение гликогенозов затруднено, поскольку данное заболевание относится к категории редких, орфанных болезней с частотой встречаемости не более 10 случаев на 100 000 человек.

Заболевание связано с дефектом ферментов, участвующих в синтезе и распаде гликогена, что приводит к аномальному повышению содержания

гликогена в пораженных тканях или органах. Гликогеновая болезнь печеночных форм протекает с развитием воспалительных и фибротических процессов в печени, вплоть до цирроза. Симптомокомплекс гликогеновой болезни достаточно специфичен: гепатоспленомегалия, отсутствие аппетита, гипотония мышц, задержка физического развития, повышенная утомляемость, развитие неврологической симптоматики и др..

Детям с гликогеновой болезнью, также как и пациентам с другими болезнями накопления, свойственны частые и тяжело протекающие интеркуррентные заболевания. Несмотря на явные признаки гуморально-эффекторного иммунодефицита, состояние иммунной системы у пациентов с гликогеновой болезнью изучено недостаточно. В связи с этим, системная оценка популяционного состава лимфоцитов, метаболической и цитокинсинтезирующей функциональной активности лимфоцитов актуальна для современной клинической иммунологии.

Степень новизны и обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые проведено длительное динамическое наблюдение 73 пациентов с гликогеновой болезнью и выявлены нарушения возрастной динамики основных и малых популяций лимфоцитов, прогрессирующие с возрастом. Анализ показателей клеточного иммунитета у пациентов с гликогеновой болезнью выявил, что с возрастом увеличивалась как степень отклонения показателей иммунограммы, так и процент пациентов, у которых эти отклонения выявлялись.

Показано, что у детей с гликогеновой болезнью возрастное увеличение относительного количества Т-лимфоцитов обусловлено увеличением количества Т-хелперов, при практически неизменном уровне относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов, в отличие от показателей условно здоровых детей, для которых относительное количество Т-хелперов снижается с возрастом, а количество цитотоксических Т-лимфоцитов увеличивается. Помимо этого выявлено также постепенное увеличение

количества В1-субпопуляции, что приводит к нарушению возрастного соотношения между В1- и В2-популяциями, при этом, уровень иммуноглобулинов классов G, A и M увеличивался с возрастом, с тенденцией к увеличению количества пациентов с повышенным уровнем данных показателей.

Впервые сформулированы особенности иммунного статуса лимфоцитов, свойственные разным типам гликогеновой болезни. Наибольшие отклонения отмечены при I типе, наименьшие - при VI-IX типах гликогеновой болезни. Наиболее тяжело протекающий клинически Ib тип заболевания характеризуется снижением цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов при значимом увеличении количества Th17-лимфоцитов.

Впервые оценена концентрация широкого спектра цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-8, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-21, IL-22, IL-23, TGF- β) и выявлены специфические изменения, зависящие от типа гликогеновой болезни и стадии фибротических изменений печени. Показано, что наиболее информативными показателями цитокинового статуса для оценки степени повреждения печени у детей с гликогеновой болезнью являются: TGF- β 1, IL-8, IL-5, IL-2, IL-4, IL-6. Каждой стадии фиброза соответствует свой цитокиновый профиль.

В диссертационной работе впервые получено, что на фоне повышенного количества Pas-позитивных лимфоцитов происходит снижение активности внутриклеточных ферментов, участвующие в цикле Кребса, дыхательной цепи и гликолизе (глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы). Снижение активности ферментов наблюдается у пациентов с гликогеновой болезнью вне зависимости от возраста, однако выявлены достоверные различия между разными типами гликогеновой болезни, наибольшие изменения метаболического профиля выявлены при I типе заболевания.

Впервые у пациентов с гликогеновой болезнью определена активность СДГ в популяциях лимфоцитов и показано, что процессы окислительного

фосфорилирования в цитотоксических Т-лимфоцитах и NK-клетках протекают в 2,5 раза интенсивнее, чем в В-лимфоцитах. Среди субпопуляций Т-хелперов наибольшая активность СДГ выявлена в Th2-лимфоцитах и активированных Т-хелперах, наименьшая - в регуляторных Т-клетках.

Особый интерес для клинических иммунологов представляют выявленные корреляционные зависимости между стадией фиброза печени и иммунологическими, биохимическими и метаболическими показателями у детей с гликогеновой болезнью. Показано, что с увеличением стадии фиброза существенно увеличивается количество активированных Т-хелперов (CD3+CD4+CD25+CD127h) и меняется соотношение Th17/Treg лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы состоит в том, что получены новые данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с гликогеновой болезнью. Прогресс заболевания характеризуется нарастанием нарушений в иммунном статусе, количество активированных Т-хелперов, Th17- лимфоцитов позволяет оценить степень выраженности воспалительных процессов, что важно и с практической точки зрения, и может использоваться в качестве мониторинга состояния пациентов с гликогеновой болезнью.

Выявленные закономерности изменения цитокинового профиля и количественных характеристик популяций лимфоцитов в зависимости от стадии фиброза печени у пациентов с гликогеновой болезнью вносят вклад в понимание механизмов формирования фиброза печени у пациентов с данной патологией. Несомненную практическую значимость представляет собой определение пороговых значений концентрации TGF- β в плазме крови для дифференциальной диагностики стадии фиброза и своевременной коррекции тактики лечения пациентов с гликогеновой болезнью.

Выявленные в работе данные о снижении интенсивности процессов гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах теоретически обосновывают развитие дисфункции иммунного ответа у пациентов с

гликогеновой болезнью. Практическую значимость для оценки степени тяжести состояния пациентов с гликогеновой болезнью имеет определение активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что разработана многоступенчатая шкала комплексной оценки выраженности нарушений функции печени на основе информативных биохимических показателей и определены пороговые значения лабораторных показателей для создания алгоритма пошаговой диагностики типа гликогеновой болезни у детей.

Достоверность и апробация результатов исследования

Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации базируются на данных собственных исследований и отражают решение поставленных задач и достижение цели диссертации. Интерпретация полученных данных выполнена в рамках современных научных направлений. Статистическая обработка проведена с использованием корректно подобранных методов.

Диссертационная работа Курбатовой О.В. выполнена на достаточном клиническом материале с использованием современных иммунологических и клинико-инструментальных методов исследования. Включённые в исследование больные рационально распределены по репрезентативным группам в зависимости от возраста и типа заболевания.

Результаты представлены в виде информативных диаграмм и таблиц, отражающих статистически значимые различия между выборками. В этой связи следует констатировать высокую степень достоверности результатов проведённых исследований и сформулированных научных положений.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 26 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК и 11 публикаций, индексируемых в базе данных Scopus. Результаты диссертационной работы доложены более чем на 20 ведущих отечественных и международных конференциях в области

иммунологии, клинической лабораторной диагностики, педиатрии, гастроэнтерологии, митохондриальной медицины и биохимии.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация изложена в традиционном стиле на 239 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной объему и методам исследования, результатов собственных исследований, изложенных в четырех главах, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список использованной литературы включает 76 отечественных и 166 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 125 рисунками и 22 таблицами.

В обзоре литературы охарактеризованы современные представления о гликогеновой болезни и представлены данные о вовлеченности иммунной системы в патогенез некоторых других болезней накопления, в частности болезни Гоше, Нимана-Пика, мукополисахаридоза и др. Показана значимость изменений уровня цитокинов и хемокинов и наличия митохондриальной дисфункции в развитии болезней печени.

Необходимо отметить подробное представление дизайна проведенного исследования и подробное описание всех лабораторных методов исследования, примененных в данной работе. Наряду с традиционными методами клинической лабораторной диагностики, автор использовал современные методы проточной цитометрии для определения популяционного состава и метаболической активности лимфоцитов, а также мультиплексный метод определения концентрации циркулирующих цитокинов. В работе применены адекватные методы статистической обработки результатов, включая метод характеристических кривых (receiver operator characteristic, ROC-анализ).

Результатам собственных исследований посвящено 4 главы. Глава 3 посвящена изучению возрастной динамики основных и малых популяций лимфоцитов в зависимости от возраста пациентов и типа гликогеновой болезни. В главе 4 представлены результаты исследований цитокинового профиля у детей с гликогеновой болезнью в зависимости от типа гликогеноза

и стадии фиброза печени. Результаты оценки клеточного метаболизма у пациентов с гликогеновой болезнью, а также разработка многопараметрической шкалы оценки степени выраженности биохимических нарушений описаны в главе 5. Также в главе представлен анализ взаимосвязи иммунологических параметров, метаболической активности лимфоцитов, биохимических показателей крови и стадии фиброза печени у пациентов с гликогеновой болезнью. Глава 6 посвящена разработке алгоритма пошаговой диагностики определения типа гликогеновой болезни на основании наиболее информативных лабораторных показателей.

В разделе «заключение» обсуждаются и обобщаются полученные результаты в сопоставлении их с данными современных научных исследований, предложены перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы и практические рекомендации конкретны и закономерно вытекают из вышеизложенного материала.

Принципиальных замечаний к диссертации нет. Автореферат соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 и полностью отражает основное содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Курбатовой Ольги Владимировны на тему: «Состояние клеточного и гуморального иммунитета и функциональная активность лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Намазовой-Барановой Лейлы Сеймуровны и доктора биологических наук, профессора Петричук Светланы Валентиновны, в которой содержится решение актуальных научных задач в области клинической иммунологии, аллергологии и клинической лабораторной диагностики: изучены особенности иммунопатогенеза заболевания с врожденными нарушениями углеводного обмена, оптимизирована тактика

диагностики фиброза печени и предложен алгоритм определения типа гликогеновой болезни у детей.

Диссертация «Состояние клеточного и гуморального иммунитета и функциональная активность лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни» Курбатовой Ольги Владимировны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика, отвечает всем требованиям п.9 положения "О порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (С изменениями и дополнениями утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. N 335 о внесении изменений в положение" О порядке присуждения ученых степеней"), предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук с точки зрения актуальности, новизны и практической значимости полученных результатов, а ее автор, Курбатова Ольга Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.09 - Клиническая иммунология, аллергология и 14.03.10 - Клиническая лабораторная диагностика.

Заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний НИМСИ ФБГОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

(127473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1 Тел.:+7(495) 609-67-00 (справочная университета) E-mail: msmsu@msmsu.ru

Доктор медицинских наук,
профессор


28.09.17

 Балмасова Ирина Петровна

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

Ученый секретарь ФГБОУ ВО МГМСУ
им. А.И. Евдокимова, д.м.н., профессор





Васюк Ю.А.