

Отзыв официального оппонента

профессора кафедры неврологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Тотолян Натальи Агафоновны на диссертационную работу Ивановой Марии Васильевны «Роль липидов миелина в иммунопатогенезе рассеянного склероза», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – Нервные болезни

Актуальность темы выполненной работы

Важной задачей современной неврологии является диагностика вариантов и терапия рассеянного склероза. Болезнь поражает преимущественно трудоспособное население, имеет хроническое течение и в большинстве случаев в отсутствие терапии приводит к необратимой инвалидизации. Рассеянный склероз характеризуется высокой гетерогенностью клинических проявлений и вариантов течения, имеются выраженные различия в ответе на иммуномодулирующую терапию. В настоящее время надежных методов прогнозирования течения и эффективности терапии заболевания не существует. Основой для разработки эффективных диагностических и терапевтических подходов является понимание иммунопатологических механизмов развития заболевания. Малоизученной является роль липидов миелина в формировании хронического иммунопатологического процесса при рассеянном склерозе, несмотря на наличие прямых и косвенных научных доказательств их участия в патогенезе заболевания.

Цель и задачи исследования

Цель исследования сформулирована предельно четко и отражает актуальность проблемы, а именно: изучение роли липидов миелина в формировании иммунного ответа при рассеянном склерозе, включая

определение их диагностического и прогностического значения, в сопоставлении с клиническими характеристиками болезни. Сформулированные задачи полностью соответствуют цели исследования. Методы исследования являются современными, соответствуют цели и поставленным задачам.

Научная новизна исследования

Научная новизна работы состоит в том, что впервые охарактеризованы реакции системы врожденного иммунитета, связанные с воздействием липидов миелина. В частности, определены рецепторы, с которыми взаимодействуют липиды, транскрипционные факторы, активируемые ими и вырабатываемые в ответ на воздействие липидов цитокины и хемокины. Установлена связь клинических особенностей течения заболевания с реакциями иммунной системы с участием липидов миелина: при неблагоприятных вариантах течения рассеянного склероза липиды подавляют секрецию провоспалительных цитокинов и хемокинов периферическими мононуклеарными клетками, при доброкачественном течении данный эффект отсутствует. Также в рамках диссертационной работы предложены в качестве маркера агрессивного течения рассеянного склероза определение интерферон-гамма-индуцируемого белка-10, а в качестве маркера прогрессирования заболевания — определение антител к ганглиозиду GM1 в сыворотке крови.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты работы имеют несомненную научную и практическую значимость. Полученные в работе данные о повышенной частоте выявления у больных с вторично-прогредиентным течением заболевания антител к ганглиозиду GM1, а также интерферон-гамма-индуцируемого белка-10 у пациентов с высокой воспалительной активностью заболевания указывают на их потенциальную роль в качестве биомаркеров для определения активности и прогнозирования течения рассеянного склероза.

Выявлена сниженная секреция цитокинов, хемокинов и факторов роста периферическими мононуклеарными клетками под воздействием липидов миелина, в первую очередь ганглиозидов, при рассеянном склерозе. В результате анализа продукции цитокинов и хемокинов при стимуляции липидами у клинически гетерогенных групп пациентов (с доброкачественным течением, быстрыми темпами нарастания инвалидности и высокой активностью заболевания) определено, что феномен снижения продукции характерен для неблагоприятных вариантов течения болезни. Полученные данные указывают на возможность применения такого подхода для прогнозирования течения рассеянного склероза, что в дальнейшем требует уточнения в исследованиях с включением большего числа пациентов.

Отмечена двойственность воздействия липидов на клетки иммунной системы больных рассеянным склерозом, характеризующаяся подавлением секреции периферическими мононуклеарными клетками как провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL1ra, IL-6, IL-8, IL-17A, MIP-1 α , MIP-1 β), так и противовоспалительных, (IL-10 и факторов роста PDGF, G-CSF и VEGF) у пациентов с неблагоприятными вариантами течения болезни.

Определены механизмы взаимодействия липидов миелина с клетками системы врожденного иммунитета, выявлены липиды, оказывающие наиболее выраженное воздействие — ганглиозиды. Выявлены рецепторы клеток системы нативного иммунитета, с которыми могут взаимодействовать липиды миелина — C-лектиновые рецепторы Mincle и Clec6. Показана способность липидов активировать важные воспалительные транскрипционные факторы NFAT и AP-1. Охарактеризованы профили цитокинов, экспрессия которых индуцируется липидами миелина.

Структура, объем и оценка содержания диссертации

Диссертация построена по общепринятой схеме и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, состоит из введения, обзора литературы, глав, в которых описаны материалы и методы исследования,

полученные результаты, их обсуждение, а также выводов, практических рекомендаций и библиографического списка.

Диссертация изложена на 124 страницах, содержит 9 рисунков и 11 таблиц. Список литературы включает 169 источников, из них 16 - отечественных, 142 - зарубежных авторов, а также 11 публикаций автора.

Во введении раскрыты актуальность, цель и задачи исследования, отражены его новизна и практическая значимость.

Обзор литературы отражает основные аспекты современных представлений об иммунопатогенезе рассеянного склероза и взаимодействии липидов миелина с различными компонентами иммунной системы. В обзоре приводятся основные данные, полученные отечественными и зарубежными авторами, дающие полное и точное представление о состоянии исследуемой проблемы в современной науке.

Вторая глава посвящена характеристике пациентов и методов исследования. Приведена клиническая характеристика 136 пациентов: 102 пациента с ремиттирующим рассеянным склерозом, 34 с вторично-прогредиентным течением заболевания, 9 с другими невоспалительными неврологическими заболеваниями, группу контроля составили 49 здоровых добровольцев.

Подробно изложена методика экспериментов по стимуляции клеточных линий и периферических моноклеарных клеток липидами миелина, определения концентраций цитокинов, хемокинов и факторов роста, антител к липидам миелина. Экспериментальная часть диссертационной работы грамотно спланирована, статистическая обработка выполнена корректно, с использованием стандартных критериев, что позволяет решить задачи исследования.

В третьей главе представлены результаты собственных клинических и иммунологических исследований, которые подтверждаются клиническими примерами, демонстрирующими взаимосвязь клинических особенностей течения рассеянного склероза с реакциями клеток иммунной системы на липиды миелина. Проведено исследование механизмов влияния липидов на

секрецию цитокинов и хемокинов клетками при взаимодействии липидов с различными рецепторами системы нативного иммунитета и посредством активации определенных транскрипционных факторов. Проанализирована частота выявления антител к липидам в биологических жидкостях пациентов и связь их выявления с клиническими особенностями заболевания.

В четвертой главе полученные результаты рассмотрены в сопоставлении с данными других исследователей, обсуждаются их однонаправленность или противоречивость. При анализе сопоставляемых результатов особое внимание уделено установлению взаимосвязи иммунопатологических механизмов с клиническими вариантами рассеянного склероза.

Все выводы и практические рекомендации логичны и аргументированы, основаны на качественных научных данных и их тщательном анализе. Выводы отражают новизну исследования, соответствуют поставленным цели и задачам.

Уровень апробации диссертационного исследования достаточен, все основные положения неоднократно представлены на научно-практических конференциях разного уровня, включая 4 доклада на международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 печатные работы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Ивановой М.В. полностью соответствует основным положениям диссертации, в нем отражены актуальность темы, научная новизна, положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость, основные результаты и их обсуждение, выводы и практическая значимость.

При анализе диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1. В результате изучения автором влияния липидов миелина на культуры периферических мононуклеарных клеток крови (PMBC) больных рассеянным склерозом получены новые научные данные относительно секреции последними цитокинов. Во втором выводе, а также в разделе диссертации, отражающем научную новизну, эти данные охарактеризованы как «развитие толерантности клеток врожденного иммунитета». Известно, что в культуре PMBC 70-90% составляют лимфоциты – клетки адаптивного иммунного ответа (за исключением небольшого количества NK-клеток) и только 10-30% - моноциты и дендритные клетки, представляющие звено врожденного иммунного ответа. Вопрос состоит в следующем: каким образом с помощью использованных в диссертационном исследовании методов возможно изолированно оценить активность именно клеток врожденного иммунного ответа?
2. Проводилось ли исследование профиля цитокинов в цереброспинальной жидкости отдельно в цельных замороженных образцах и в образцах после центрифугирования (надосадках)? Может ли это, по мнению автора, влиять на результат определения концентраций этих молекул?

Целесообразно также высказать несколько замечаний, а именно:

- При том, что в основных положениях диссертации использованы максимально четкие формулировки, выглядит недостаточно обоснованным применение в единичных случаях некоторых определений, таких как «предиктор» в отношении показателя, прогностическая значимость которого в динамике не оценивалась (вывод 4).

- В некоторых таблицах (таблицы 4, 9, 10) имеются неточности в виде неполного соответствия названия таблицы представленным в них данным или отсутствия единиц измерения приведенных показателей.

Приведенные замечания несколько не умаляют достоинств диссертационной работы и не влияют на сугубо положительную ее оценку.

