

## О Т З Ы В

официального оппонента, д.м.н., профессора Козлова Ивана Генриховича на диссертационную работу Саркисян Нарине Гришаевны на тему: «Молекулярно-генетический анализ факторов врожденного иммунитета как обоснование локальной иммунотерапии пародонтита», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

**Актуальность избранной темы.** Актуальность данной работы определяется высокой распространенностью воспалительных заболеваний пародонта и усовершенствованием терапии пародонтита с применением иммунотропных композиций. Локальное воздействие препаратов непосредственно в очаге поражения является важным, т.к. соответствует новой концепции здравоохранения: персонализации, т.е. выбору лечебных воздействий с учетом индивидуальных, в том числе генетических особенностей конкретного пациента, и предективности, означающей предсказание особенностей состояния здоровья пациента до появления первых симптомов болезни.

В связи с постоянным прогрессирующим развитием воспалительных заболеваний пародонта, остро стоит задача создания новых более эффективных лекарственных препаратов. Одним из наиболее приоритетных путей её решения является разработка иммунотропных средств на основе глицерогидрогеля кремния, который является проводником лекарственных средств, в частности, интерлейкина 1-бета и азоксимера бромида, обеспечивающих стимуляцию врожденного иммунитета.

Основная роль в диссертационной работе Саркисян Н.Г. отведена молекулярно-генетическому анализу исследуемых пациентов как с пародонтитом, так и без него. Автором подтверждено нарушение противомикробной защиты на уровне генетических маркеров-предикторов в генах врожденного иммунитета (TLR, дефенсинов, цитокинов).

Автор предложила физиотерапевтическим методом снизить количество микроорганизмов путем ультрафиолетового воздействия непосредственно в пародонтальных карманах, с использованием гибкого, тонкого световода в труднодоступных местах, тем самым локально воздействуя на основной фактор (скопление микроорганизмов), способствующий развитию обострения пародонтита.

В диссертационной работе подтверждена необходимость активации врожденного иммунитета путем использования иммуностропных средств. Важным фактором, определяющим хроническое течение болезни, является недостаточная выработка противомикробных пептидов на слизистых оболочках. Для решения этой проблемы автор предложила композиции, обладающие иммуностропным действием, эффективность и безопасность которых доказана экспериментальным исследованием.

Предложенные в настоящем исследовании новые подходы в терапии пародонтита с использованием иммуностропных композиций являются перспективным направлением в практическом здравоохранении.

Все вышеизложенное и определило актуальность и значимость диссертационного исследования Саркисян Н.Г.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Все положения и выводы диссертации, вытекающие из содержания работы, обоснованы достаточным количеством объектов исследования. Диссертационное исследование имеет логическую последовательность изучения проблемы, цель соответствует теме работы, задачи способствуют достижению цели. В исследовании Саркисян Н.Г. полученные результаты позволяют считать поставленные задачи решенными, а цель достигнутой.

В диссертационной работе использовались современные методы анализа с достаточным объемом проведенных исследований.

В соответствии с поставленной целью обоснована необходимость иммунотерапии пародонтита и разработка методов локальных терапевтических воздействий на ткани пародонта на основании оценки молекулярно-генетических механизмов врожденного иммунитета.

**Научная новизна.** Автором впервые выявлен дисбаланс параметров врожденного иммунитета в тканях пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, проявляющийся в повышении экспрессии гена паттерн-распознающего рецептора TLR-2 и в снижении экспрессии гена противомикробного пептида HBD-1, что является причиной нарушения защиты от патогенов.

Доказана роль молекулярно-генетических маркеров-предикторов (полиморфные аллели генов *TLR-2*, *HBD-1* и *TNFA*), ассоциированных с пародонтитом, которые позволяют до клинической манифестации заболевания проводить профилактические мероприятия.

Впервые подтверждено ключевое значение новой топической композиции для лечения пародонтита, включающая иммуностропные препараты. Проведена достоверная оценка эффективности разработанных композиций на модели хронического воспаления пародонта у лабораторных животных.

Впервые определена высокая клиническая эффективность применения разработанных терапевтических композиций топического применения у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на основе глицерогидрогеля кремния с иммуностропными препаратами, позволяющая удлинить сроки ремиссии заболевания.

Разработан и апробирован новый способ ультрафиолетового воздействия на ткани пародонта в труднодоступных местах с применением гибкого световода.

Усовершенствованные традиционные методы терапии пародонтита, включающие топические мероприятия с иммуностропными средствами, и обоснованные показания их применения в различных стадиях патогенетического процесса являются необходимыми для стойкого купирования воспалительного процесса.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Эффективность лечения у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом подтверждена разработанными и внедренными в практику усовершенствованными методами топической терапии воспаленного пародонта с использованием иммуностропных препаратов – рекомбинантного ИЛ-1 $\beta$  и азоксимера бромида в композиции с глицерогидрогелем кремния. Эффективность использования портативного прибора с ультрафиолетовым воздействием для антисептической обработки пародонтальных карманов подтверждена купированием воспалительного процесса и стойкой ремиссией.

Полученные автором результаты могут широко использоваться в практическом здравоохранении и в преподавании соответствующих разделов на теоретических и клинических кафедрах медицинских вузов.

Все это позволяет признать высокую теоретическую и практическую значимость представленной работы.

**Публикации.** Количество публикаций автора по теме диссертации можно признать достаточным – 41, в том числе: 22 – в изданиях, рецензируемых ВАК, 13 – в других изданиях, из них зарубежных – 5; монография – 1, получено 5 патентов РФ на изобретения.

**Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора.** Достоверность полученных результатов исследования обеспечена обоснованностью исходных теоретических позиций, достаточным объемом материала, использованием широкого спектра адекватных клинических методов, апробированных лабораторных тестов и сертифицированных наборов реагентов (проведен генетический анализ, определены иммунологические, микробиологические и вирусологические параметры), воспроизводимостью результатов доклинических и клинических исследований, применением современных методов и компьютерных программ статистического анализа полученных данных.

Доклиническое исследование безопасности и эффективности разработанных терапевтических композиций, включающее анализ гистологических срезов тканей пародонта у 75 лабораторных крыс линии Вистар, проводилось в соответствии с рекомендациями и этическими нормами. Для использования биологического материала в научных целях и участия пациентов в исследовании подписано информированное добровольное согласие. Работа одобрена локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (г. Екатеринбург).

Основные положения работы доложены и обсуждены на российских и международных конференциях и конгрессах, посвященных вопросам иммунологии и стоматологии.

Личный вклад Саркисян Н.Г. состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, основной идеи, цели и

задач осуществлялось совместно с научными консультантами: д.м.н., профессором Тузанкиной И.А. и д.м.н., профессором Ронь Г.И.

Лично автором разработаны план и программа исследования, проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, осуществлена статистическая обработка первичных данных, интерпретация и анализ полученных результатов, написана и оформлена рукопись диссертации, представлены результаты работы в научных публикациях и в виде докладов на различных конгрессах, конференциях и форумах.

**Характеристика работы.** Диссертация изложена на 270 страницах компьютерного текста. Иллюстрации представлены 16 таблицами и 60 рисунками. Диссертация включает: введение, главу обзора литературы, главу материалов и методов исследования, три главы результатов собственных экспериментальных и клинико-лабораторных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Обзор литературы включает 530 источников (337 отечественных и 193 зарубежных авторов).

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук: № гос. регистрации 01201352044 «Иммунологические механизмы онтогенеза человека и их роль в формировании патологических состояний» Института иммунологии и физиологии УрО РАН и программы научных исследований Уральского государственного медицинского университета, регистрационный номер 116033110047-9 «Теоретическое и клиническое обоснование новых диагностических, лечебных, профилактических, реабилитационных технологий в стоматологии».

Во введении автор четко обосновывает выбор темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту. Четко и логично изложена актуальность, новизна исследования и практическая значимость работы. В обзоре литературы представлены данные о стоматологических аспектах пародонтита, эпидемиологии, этиологии, патогенезе, клинических проявлениях хронического пародонтита, молекулярно-генетических механизмов патогенеза заболевания, роли противомикробных пептидов в развитии патологического воспалительного процесса в тканях пародонта.

В материалах и методах представлены использованные современные методы клинического, инструментального, лабораторного обследования пациентов. Описан метод использования ультрафиолетового облучателя для воздействия в труднодоступных местах в пародонтальных карманах. Автором применен достаточный набор современных методов, которые обеспечили надежность полученных результатов. Результаты исследований адекватно обработаны математически с использованием современных статистических программ.

Результаты собственных исследований описаны в трех главах. Анамнестические, клинические, иммуногенетические и вирусологические данные описаны в 3 главе, с подробной оценкой изучаемой патологии. Поиску ассоциации маркеров в генах врожденного иммунитета с риском развития пародонтита, который является значимым для решения поставленных задач, посвящена 4 глава. Подробно описаны ассоциации частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров в генах цитокинов TNFA (-308 G/A) и IL10 (-1082 A/G) с риском развития пародонтита, а также гена TLR-2 и DEFB1. Автор использовал высокотехнологичные методы исследований, включая метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Глава 5 посвящена экспериментальному исследованию тканей пародонта при иммунотропных воздействиях на модели хронического воспаления пародонта у лабораторных животных. Структурные изменения в тканях пародонта у экспериментальных животных с моделированным пародонтитом без применения топических композиций, а также с применением рекомбинантного IL-1 $\beta$  и с азоксимера бромидом подтверждены достаточным количеством гистологического материала, характеризующегося функциональными и морфологическими изменениями в тканях пародонта у лабораторных животных.

В 6 главе отражены результаты применения новой комплексной терапии, дан сравнительный анализ клинико-микробиологической оценки эффективности ультрафиолетового облучения на ткани пародонта пациентов с различной степенью тяжести хронического пародонтита, проанализированы клинико-рентгенологические данные у пациентов с различной степенью тяжести хронического пародонтита при использовании комплексных методов терапии в стадии обострения и ремиссии.

Полученные данные позволили автору обосновать применение новых иммуотропных композиций и предложить новые подходы комплексной терапии пародонтита.

Результаты исследований обобщены и кратко обсуждены в главе «Заключение». Семь выводов диссертации четко сформулированы и непосредственно вытекают из собственных данных автора.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты исследования нашли применение при обучении в аспирантуре Института иммунологии и физиологии УрО РАН; в учебном процессе на кафедре терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета для студентов и слушателей факультета последипломного образования, а также Южно-Уральского и Тюменского государственных медицинских университетов. Полученная модель хронического пародонтита у животных используется в научных исследованиях при разработке новых лекарственных средств в лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН. Метод локального применения композиций с иммуотропными препаратами при хроническом генерализованном пародонтите внедрена в практику сети стоматологических клиник «Дента ОС» (г. Екатеринбург); терапевтического отделения ГАУЗ СО «Полевская стоматологическая поликлиника (г. Полевской, Свердловская обл.).

Все это свидетельствует о широком внедрении исследований автора в медицинскую практику, работу научно-исследовательских институтов и учебный процесс медицинских вузов.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Саркисян Н.Г. нет.

**Заключение.** Диссертационная работа Саркисян Нарине Гришаевны «Молекулярно-генетический анализ факторов врожденного иммунитета как обоснование локальной иммунотерапии пародонтита» представляет собой законченную, самостоятельно выполненную квалификационную

научно-исследовательскую работу, содержащую решение важной для клинической иммунологии проблемы, заключающейся в оценке молекулярно-генетических факторов врожденного иммунитета, разработке и применении локальных иммуностропных композиций в терапии хронического генерализованного воспаления пародонта.

Работа по своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям согласно раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (в ред. Постановления правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748), а автор диссертации Саркисян Н.Г. заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Зав. лабораторией экспериментальной  
и клинической фармакологии НМИЦ  
Детской гематологии, онкологии и  
иммунологии им. Д. Рогачева  
Минздрава РФ, д.м.н., профессор

И.Г. Козлов

Подпись д.м.н., профессора И.Г. Козлова заверяю:

Ученый секретарь НМИЦ  
Детской гематологии, онкологии и  
иммунологии им. Д. Рогачева  
Минздрава РФ, д.м.н., профессор



Е.А. Спиридонова

Козлов Иван Генрихович, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России. Адрес организации – 117997, ГСП-7, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1. Тел. 8(495)-627-24-00. E-mail: [immunopharmacology@yandex.ru](mailto:immunopharmacology@yandex.ru)