

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», член-корр. РАН,
профессор, доктор медицинских наук
Никитюк Д.Б.
_____ 2020 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи

Диссертация «Биомаркеры клеточного и мукозального иммунитета в оценке эффективности комплексной терапии пищевой аллергии у детей» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи.

Мухортых Валерий Алексеевич, 1989 года рождения, гражданство РФ, окончил Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2012 году по специальности «Педиатрия».

В 2015 году зачислен в число аспирантов 1-ого курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуру по специальности «Педиатрия».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2018 году в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи.

Научный руководитель/научный консультант:

Ревакина Вера Афанасьевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением аллергологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Сенцова Татьяна Борисовна, д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии № 2 педиатрического факультета ФGAOY BO «PНИМУ имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ

Тема диссертационного исследования была утверждена на заседании Ученого совета ФГБНУ «НИИ питания», протокол № 1 от 21 января 2016 года.

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Биомаркеры клеточного и мукозального иммунитета в оценке эффективности комплексной терапии пищевой аллергии у детей», представленного на соискание ученой степени кандидата наук по специальности «Педиатрия», принято следующее заключение:

- **Актуальность темы диссертационного исследования обусловлена** тем, что пищевая аллергия (ПА) возникает у детей раннего возраста, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и сложными иммунологическими механизмами (Балаболкин И.И., 2010, Лусс Л.В., 2013, Ревакина В.А., 2017, Tham EH, Leung ASY, 2018). Высокую распространенность ПА в детском возрасте связывают с функциональной незрелостью органов пищеварения, особенностями мукозального, гуморального и клеточного иммунитета. Одним из иммуноглобулинов играющим важную роль в мукозальном иммунитете желудочно-кишечного тракта является секреторный

иммуноглобулин А (sIgA), который обеспечивает первую линию защиты слизистой оболочки от чужеродных антигенов/аллергенов [Calvo M., Grob K., 1990, Рабсон Л., Ройт А.З 2006]. С низкой продукцией sIgA связывают снижение барьерной функции слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, что повышает риск развития ПА [Лусс Л.В. 2011, BerinMC, MayerL., 2013]. Данных литературы о sIgA при пищевой аллергии недостаточно, что требует дальнейших исследований.

В последние годы активно ведутся исследования, основанные на поиске специфических маркеров воспаления, позволяющих прогнозировать течение болезни, риски повторных обострений, подбирать и оценивать эффективность персонализированной терапии. К биомаркерам иммунного воспаления относят цитокины Th2 клеток, катионные белки эозинофилов: эозинофильный катионный белок (ECP), эозинофильный нейротоксин (EDN). Немаловажную роль в дифференциальной диагностике характера воспаления играет кальпротектин (KhanS.,2018). Однако роль катионных белков эозинофилов и кальпротектина в механизмах развития ПА у детей остается практически не изученной. Отсутствуют исследования по выявлению значимых специфических иммунологических и воспалительных маркеров при ПА. Проблема подбора эффективной персонализированной терапии для больных ПА, основанная на выявлении биомаркеров воспаления, до настоящего времени практически не изучена. В этой связи поиск специфических биомаркеров воспаления позволит разработать патогенетическую стратегию терапии различных проявлений ПА, тем самым существенно увеличить клиническую и экономическую эффективность проводимого лечения.

Несмотря на существенный прогресс в изучении IgE-опосредованных реакций при ПА, другие механизмы (не-IgE и клеточно-опосредованные) до конца не раскрыты. Большинство российских и зарубежных исследований по изучению иммунного ответа при ПА посвящены гуморальному иммунитету, лишь единичные работы – клеточному и мукозальному иммунитету. Изучение различных звеньев иммунного ответа и биомаркеров

воспаления при ПА с применением современных иммунологических методов является чрезвычайно актуальной задачей современной медицины. Все это подчеркивает актуальность и необходимость поиска новых путей решения проблемы, на основе комплексной оценки биомаркеров воспаления и методов терапии, влияющих на характер воспаления при ПА, что имеет важную научно-практическую значимость.

На формирование системного иммунитета могут оказывать влияние нарушения в микробиоме кишечника. Изменения состава микробиома кишечника диктует необходимость поиска путей его восстановления. До недавнего времени широко использовались пробиотики, содержащие один штамм микроорганизмов. Применение же пробиотиков нового поколения, имеющих в своем составе различные штаммы микроорганизмов требует дальнейших исследований. Отсутствуют данные о влиянии пробиотиков нового поколения на биомаркеры воспаления при ПА. Проведение многофакторного анализа роли клинических и иммунологических факторов в развитии ПА позволит обосновать разработку новых терапевтических подходов.

• **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации** состоит в непосредственном проведении исследований: в разработке плана исследований, самостоятельном осмотре, ведении и катamnестическом наблюдении детей с ПА; анализе полученных клинико-лабораторных данных; проведении лабораторных исследований (субпопуляционного состава лимфоцитов методом проточной цитофлуорометрии; кальпротектина эозинофильного нейротоксина, секреторного IgA, эозинофильного катионного белка, общего IgE, сывороточных IgA, IgM, IgG методом иммуноферментного анализа). Автор лично интерпретировал полученные данные. На основании полученных результатов автором проведены анализ и статистическая обработка данных, интерпретация полученного материала, подготовлены публикации по выполненной работе, сформулированы основные положения и выводы диссертационной работы.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Научные положения, выводы и рекомендации, содержащиеся в диссертации, соответствуют поставленным задачам, получены с использованием современных методических подходов, статистического анализа результатов, большого экспериментального материала, проанализированного и сопоставленного с имеющимися в литературе данными.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Впервые у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА проведено комплексное исследование мукозального, гуморального и клеточного иммунитета. Показано, что на момент начала терапии у всех детей отмечался низкий уровень фекального секреторного IgA. Уровни IgE антител были повышены при нормальных показателях сывороточных IgA, IgG, IgM. Особенностью клеточного иммунитета явилась повышенная продукция Т- и В-лимфоцитов при пониженных значениях абсолютных чисел NK- и NKT- клеток на фоне эозинофильного воспаления.

Впервые исследованы биомаркеры воспаления: эозинофильный катионный белок, эозинофильный нейротоксин, кальпротектин у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Выявлено, что у всех детей отмечались высокие уровни эозинофильного катионного белка в сыворотке крови, эозинофильного нейротоксина в кале при нормальных показателях фекального кальпротектина, что свидетельствует об эозинофильном характере воспаления и отсутствии нейтрофильного характера воспаления при ПА.

Впервые изучены особенности микробиоты кишечника детей бактериологическим методом с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. У всех детей отмечались нарушения микробного пейзажа кишечника в виде преобладания условно-патогенной флоры (*S.aureus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, грибов рода *Candida*) и сниженного уровня индигенной флоры (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*).

Впервые проведена оценка эффективности и безопасности мультиштаммового пробиотика у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Показано существенное улучшение клинических симптомов ПА на фоне проводимого лечения. Определены перспективы практического использования мультиштаммового пробиотика в терапии кожных и гастроинтестинальных проявлений ПА.

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Предложенный персонифицированный подход к комплексному обследованию и лечению детей с ПА рекомендуется использовать на стационарном и амбулаторном этапах оказания медицинской помощи. Показана необходимость определения секреторного IgA, эозинофильного катионного белка, эозинофильного нейротоксина, субпопуляционного состава лимфоцитов для прогноза течения болезни, оценки активности и характера воспаления, эффективности терапии. Получены новые данные о биомаркерах воспаления и об эффективности пробиотика нового поколения у больных кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Проведенное исследование показало возможность прогноза тяжести течения ПА и эффективность мультиштаммового пробиотика на основе контроля биомаркеров воспаления и оценки результатов микробиома кишечника. Подтверждено положительное влияние пробиотика нового поколения на клинические симптомы, показатели sIgA, эозинофильного катионного белка и эозинофильного нейротоксина, а также измененный микробиом кишечника, что открывает новые возможности контроля за симптомами ПА.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени** подтверждается участием в научно-практических мероприятиях. Основные материалы диссертации представлены на всероссийских и международных конгрессах.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Результаты данного исследования внедрены в лечебный процесс отделения аллергологии и отделения гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии».

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.01.08 – Педиатрия. Медицинские науки – и областям исследования п. №1 «рост, физическое, половое и нервно-психическое развитие, состояние функциональных систем ребенка», п. №6 «внутренние болезни детей».

- **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликовано 30 работ, в том числе 6 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий.

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России¹ (не менее 2):

- 1) Фенотипы пищевой аллергии у детей / В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова, М.И. Шавкина, **В.А. Мухортых** // Вопросы питания. – М., 2016. – Т.85, №1. - С. 75-80
- 2) Гастроинтестинальная пищевая аллергия: трудный диагноз. Клинический разбор больных / **В.А.Мухортых** //Эффективная фармакотерапия. – М, 2017. - №2 – С.9-12 (репринт)
- 3) Эффективность применения пробиотика у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии / В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых** // Вопросы детской диетологии. М, 2017. - Т.15, №1 - С.57-58
- 4) Опыт применения мультиштаммового пробиотика у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии/ **В.А.Мухортых**, И.А.Ларькова, В.А.Ревякина// Вопросы детской диетологии. М, 2018. Т.16, №4 – С.57-61
- 5) Современные пути повышения эффективности терапии пищевой аллергии у детей/ **В.А. Мухортых**, В.А. Ревякина, И.А. Ларькова,

¹ 1 С 1 января 2021 года будут действовать требования, изложенные в п.20 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Е.Д.Кувшинова// Российский аллергологический журнал, М., 2019 – Т.16.№4, С.24-29

- 6) Оценка биомаркеров воспаления при использовании мультиштаммового пробиотика в комплексной терапии пищевой аллергии у детей/ В.А. Ревякина, **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, Т.Б.Сенцова, И.В.Ворожко, Е.Д.Кувшинова// Педиатрия. Журнал им.Г.Н.Сперанского, М., 2020 – Т.99, №2. С.68-74

Материалы научных конференций

- 1) Эффективность применения пробиотика у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии / В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых** // Вопросы детской диетологии. М, 2017. - Т.15, №1 - С.57-58
- 2) Роль пробиотиков в повышении эффективности терапии у детей с пищевой аллергией / **В.А.Мухортых**, И.А.Ларькова, В.А.Ревякина // Смоленский медицинский альманах, С, 2017. - №4. – С.38-41
- 3) Новые возможности для диетотерапии аллергии на яйцо/ Ревякина В.А., Кувшинова Е.Д., Ларькова И.А., **Мухортых В.А.**, Кравцова П.О.// Аллергология и иммунология в педиатрии. - 2017. № 3(50). - С.28-34.
- 4) Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии/ **В.А.Мухортых**, И.А.Ларькова, В.А.Ревякина, Т.Б.Сенцова, И.В.Ворожко// Вопросы детской диетологии. М, 2018. - Т.16, приложение №1 - С.39-40 (№ 3 – С.67)
- 5) Полиморфизм пищевой аллергии у детей. Современные возможности дифференциальной диагностики/ В.А.Ревякина, Е.Д.Кувшинова, И.А.Ларькова, **В.А.Мухортых**, П.О.Кравцова// Вопросы детской диетологии. М, 2018. - Т.16, приложение №1 - С.41-42
- 6) Современные возможности коррекции микрофлоры кишечника у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии/ В.А.Ревякина, **В.А.Мухортых**, И.А.Ларькова, Е.Д.Кувшинова // Вопросы детской диетологии. М, 2018. - Т.16, приложение №1 - С.42-43

- 7) Трудный пациент в детской аллергологической практике. Клинические случаи / **В.А.Мухортых** // Эффективная фармакотерапия. – М, 2018. - №38 – С.38-40
- 8) Эффективность применения пробиотиков у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии / В.А.Ревякина, И.А.Ларькова, **В.А.Мухортых** // Вопросы детской диетологии, М.,2017. – Т.15, №1 - С.57-59
- 9) Mucosal immunity in infants with food allergy / Vorozhko I, **Mukhortykh V**, Sentsova T, Chernyak O. / Abstracts – 2017 EAACI
- 10) Eosinophil cationic protein and eosinophil derived neurotoxin levels in children with food allergy / Sentsova T, **Mukhortykh V**, Vorozhko I, Chernyak O / Abstracts – 2017 EAACI
- 11) Serum eosinophil cationic protein level dynamics in children with food allergy / Ilya Vorozhko, Tatyana Sentsova, Lidia Ilyenko, **Valery Mukhortykh**, Olga Chernyak / POSTER VIEWING SESSION 3: Food allergy & anaphylaxis, PAAM 2017, United Kingdom
- 12) Coprofiltrate eosinophilic neurotoxin levels in children with food allergy / Tatyana Sentsova, Lidia Ilyenko, **Valery Mukhortykh**, Ilya Vorozhko, Olga Chernyak / POSTER VIEWING SESSION, PAAM 2017, United Kingdom
- 13) Coprofiltrate eosinophilic neurotoxin levels in children with food allergy/ Sentsova T., Ilyenko L., **Mukhortykh V.**, Vorozhko I., Chernyak O/ EAACI 2018, Munich, Germany
- 14) Serum eosinophil cationic protein level dynamics in children with food allergy/ Sentsova T., Ilyenko L., **Mukhortykh V.**, Vorozhko I., Chernyak O./ EAACI 2018, Munich, Germany
- 15) The clinical effectiveness of the multiprobiotic treatment for children suffering from food allergy / Larkova I. A., **Mukhortykh V. A.**, Revyakina V. A./ EAACI 2018, Munich, Germany
- 16) The fecal IgA as a biomarker of the immune maturation of the multiprobiotic treatment for children with food allergy/ **Mukhortykh V. A.**, Sentsova T. B.,

Revyakina V. A., Larkova I. A., Vorozhko I. V./ EAACI 2018, Munich, Germany

- 17) Секреторный IgA в оценке эффективности комплексной терапии пищевой аллергии у детей/ **Мухортых В.А.**, Ларькова И.А.// Российский вестник перинатологии и педиатрии, М., 2018. – Т63.№4, С.158-159
- 18) Современные возможности коррекции микробиоценоза кишечника у детей с пищевой аллергией / **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина, // Вопросы детской диетологии. М, 2018. - Т.87, №5 - С.146-147
- 19) Эффективность использования мультиштаммового пробиотика у детей с различными проявлениями пищевой аллергии/ **Мухортых В.А** //Сборник тезисов «Трудный диагноз» в педиатрии. IV Мультидисциплинарный подход. Московский городской съезд педиатров., М.2018 – С95-96
- 20) Диагностическая значимость эозинофильного нейротоксина в кале у детей с различными проявлениями пищевой аллергии/ **Мухортых В.А.**, Ларькова И.А., Ревякина В.А., Сенцова Т.Б., Ворожко И.В.// Российский аллергологический журнал, М., 2019 – Т16.№1
- 21) Применение мультиштаммового пробиотика в модуляции иммунного ответа у детей с пищевой аллергией/ Ларькова И.А., **Мухортых В.А.**, Ревякина В.А., Ворожко И.А., Джусоева Е.В./ Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2019. Т. 64. № 4. С. 166.
- 22) Biomarker of eosinophilic inflammation in children suffering from food allergy/ **V.A.Mukhortykh**, I.A.Larkova, V.A.Revyakina, I.V.Vorozhko//EAACI 2020, London
- 23) Characteristics of cell – mediated immunity in children with food allergy/ **V.A.Mukhortykh**, I.A.Larkova, V.A.Revyakina, I.V.Vorozhko// EAACI 2020, London
- 24) Multi-strain probiotic as an adjuvant in oral tolerance in children with food allergy/ I.A.Larkova, **V.A.Mukhortykh**, V.A.Revyakina //EAACI 2020, London

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1) Международный Конгресс детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (Москва, 2016, 2017, 2018, 2019)

2) Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 2016; 2017, 2019)

3) Всероссийском конгрессе нутрициологов и диетологов с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Качество пищи» (Москва, 2016)

4) Congress of the European Academy of Allergy and Clinical immunology (Италия, 2016; Финляндия, 2017; Лондон, 2017; Германия, 2018, Португалия 2019, Великобритания 2020)

5) Российский конгресс «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием (Москва, 2017, 2019)

6) 5th World Congress of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (Glasgow, 2019).

Диссертация соответствует требованиям п. 19 Положения о присуждении ученых степеней Университета и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Мухортых Валерия Алексеевича «Биомаркеры клеточного и мукозального иммунитета в оценке эффективности комплексной терапии пищевой аллергии у детей» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.08. – «Педиатрия».

Заключение принято на научной конференции клиники ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» 15.01.2020г.

Присутствовало на заседании 40 чел.

Результаты голосования: «за» – 40 чел., «против» – нет,
«воздержалось» – нет, протокол № 1 от 15.01.2020 г.

Председательствующий на заседании

Главный врач ФГБУН «ФИЦ  д.м.н. Зайнудинов З.М.
питания и биотехнологии» (подпись)