

медицинских наук по специальности «3.2.7 – аллергология и иммунология» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Соискатель Чувирова Анастасия Геннадьевна, 01.08.1986 г.р., гражданка Российской Федерации, в период подготовки диссертации работала врачом аллергологом-иммунологом в отделении иммунопатологии у детей ФГБУ ГНЦ «Института иммунологии» ФМБА России.

В 2009 году окончила РНИМУ им. Пирогова (Россия) по специальности «педиатрия». Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 1 выдана ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Научный руководитель: Ярцев Михаил Николаевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения иммунопатологии у детей ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Слушали:

1. Выступление Чувировой А.Г. об основных результатах диссертационной работы.
2. Выступление рецензента доцента, к.м.н. Зайцевой С.В.
3. Выступление рецензента доцента, к.м.н. Хорошиловой Н.В.

По результатам рассмотрения диссертации «Аллергическая сенсibilизация и дифференцированный подход к ведению детей с повторными эпизодами острого ларинготрахеита» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7 – аллергология и иммунология» принято следующее

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Диссертация Чувировой А.Г. «Аллергическая сенсibilизация и дифференцированный подход к ведению детей с повторными эпизодами

острого ларинготрахеита» посвящена проблеме, имеющей большое научно-практическое значение.

Актуальность исследования

Коморбидность с респираторными инфекциями у часто болеющих детей, развитие острого обструктивного ларинготрахеита (ООЛТ) (МКБ 10 – J05.0) – актуальная междисциплинарная проблема. Активно проводятся исследования патогенеза, иммунопатогенеза острого ларингита (крупы) и ларинготрахеита, разрабатываются стандарты лечения. Актуально исследование иммунологических особенностей ООЛТ, имеющих большое значение для создания стандартов лечения. Выраженность стеноза гортани и другие осложнения указывают на необходимость оказания скорой и неотложной помощи. В патогенезе ООЛТ принимают участие вирусы гриппа, парагриппа, аденовирусы, респираторно-синцитиальный вирус, бокавирус, вирусно-вирусные ассоциации, микробно-вирусные ассоциации, способствующие формированию воспаления в подскладочном отделе гортани. Исследование иммунопатогенеза указывает на присутствие аллергического компонента, что подтверждено повышением общего IgE, ИЛ-4 и улучшением при назначении в острый период ООЛТ антигистаминных препаратов (Кладова О.В., 2004; Харламова Ф.С., 2003). У большинства детей эпизоды ООЛТ проходят к 7-летнему возрасту. У 20-40% детей ООЛТ может рецидивировать, включая ООЛТ I степени без выраженного стеноза. Ларингит может сочетаться с трахеитом и бронхитом с обструктивным компонентом, развитием БА (Schultz A, 2012). Острый ларинготрахеит (МКБ 10 – J05.0; МКБ 10 – J04.2) сопровождают ОРВИ, что соответствует ООЛТ I степени, риск стеноза гортани сохраняется (Клинические рекомендации. Острый ларингит, 2020г.; Клинические рекомендации – Острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ) у детей – 2016, 2017-2021).

У детей дошкольного возраста обструкция верхних и нижних дыхательных путей в сочетании с вирусными инфекциями сопровождается

повышением уровня лейкотриенов, который коррелирует с выраженностью кашля и обструкции. В доступной литературе мы не нашли исследований о назначении монтелукаста в лечении АР в сочетании с повторным ООЛТ, ОРВИ для профилактики БА.

У части детей с повторным ООЛТ наблюдается ЛОР-патология (аденоиды, хронический тонзиллофарингит, хронический риносинусит и др.). Известна эффективность бактериальных лизатов при хронических ЛОР-заболеваниях. Нами был выбран препарат Бронхо-ваксом и исследована его эффективность у детей с повторным ООЛТ, ОРВИ и хроническими заболеваниями ЛОР-органов.

В доступной литературе мы не нашли исследований показателей врожденного иммунитета, экспрессии TLR при повторном ООЛТ. TLR2 распознают липотейхоевую кислоту грамположительных бактерий, их дисфункция приводит к персистенции стафилококков (Снарская Е.С., 2012), что наблюдается по нашим данным у детей с повторным ООЛТ. Известно значение TLR4 и ИФН- γ в защите от вирусов. Экспрессия TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках при повторном ООЛТ и ОРВИ изучена впервые.

Целью исследования явилась разработка дифференцированного подхода в иммунодиагностике и терапии у детей с повторными эпизодами острого обструктивного ларинготрахеита.

Задачи исследования:

1. Изучить иммунопатогенез и клинико-иммунологические особенности (уровень IgA, IgG, IgM, ИФН- γ , ИФН- α в крови, CD3⁻CD16⁺-, TLR2⁺CD14⁺-, TLR4⁺CD14⁺-, CD119⁺CD14⁺-клетки), микробиоту слизистой ротоглотки у детей с повторными эпизодами ООЛТ и ОРВИ.
2. Изучить спектр причинно-значимых аллергенов, общий и специфические IgE, показатели функции внешнего дыхания и частоту АЗ у детей с повторными эпизодами ООЛТ и ОРВИ.

3. Изучить данные семейного анамнеза и частоту АЗ у близких родственников детей с повторными эпизодами ООЛТ и ОРВИ.
4. Изучить клиническую эффективность и безопасность лечения детей с повторными эпизодами ООЛТ, ОРВИ и ИАР с включением монтелукаста в сравнении с группой, не получавшей монтелукаст.
5. Изучить клиническую эффективность и безопасность лечения детей с повторными эпизодами ООЛТ, ОРВИ и ЛОР-заболеваниями с включением Бронхо-ваксома и в группе сравнения.
6. Разработать анкету-опросник и алгоритм оптимизации дифференциальной диагностики и лечения детей с повторными эпизодами ООЛТ и ОРВИ.

Созрела необходимость поиска альтернативных направлений терапии повторного ООЛТ и ОРВИ в сочетании с аллергопатологией или с хроническим воспалением слизистой ротоглотки с целью оптимизации подходов к лечению.

В исследовании использованы современные методы аллерго- и иммунодиагностики, мониторинг за детьми с повторным ООЛТ, ОРВИ в течение 3 лет, разработан дифференцированный алгоритм лечения, изучены триггерные факторы формирования БА и возможности ее профилактики.

Связь темы диссертации с планами ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Диссертационная работа Чувировой А.Г. выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ, проводимых ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России по направлению: «Разработка новых методов лечения различных форм иммунопатологии, иммуноопосредованных профзаболеваний и их осложнений» (шифр Иммунопатология-16), подэтапы 1.3, 1.5, 1.7, 2.5, 3.6, 4.6. Тема диссертации утверждена на заседании секции

№3 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, протокол №4 от 02.12.2015 г.

Протокол настоящего исследования был одобрен Комитетом по этике ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (протокол №7/2 от 17.08.2015 г.).

Основные результаты диссертационной работы

В исследование включено 190 детей с повторным ООЛТ с частотой 3-8 раз в год и ОРВИ с частотой 6-12 раз в год (100 мальчиков и 90 девочек), на начало наблюдения в возрасте 3–9 лет (138 - 3-6 лет и 52 ребенка – 7–9 лет). Группа сравнения состояла из 30 детей 3-9 лет (21 – 3-6 лет и 9 детей – 7-9 лет) с частотой ОРВИ 3-5 раз в год, без очагов хронической инфекции респираторного тракта и повторного ООЛТ. Мониторинг за детьми – 3 года.

Родители пациентов получали подробную информацию о проводимом исследовании и один из них подписывал добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

До обращения к аллергологу-иммунологу у детей был диагностирован острый стенозирующий ларинготрахеит (ООЛТ), они наблюдались у ЛОР-врача и педиатра не менее 1 года по месту жительства. В дебюте у детей 3-6 лет наблюдали: у 77 (55,7%) ООЛТ I степени, легкое течение (сумма баллов 3-5), согласно классификации; у 61 (44,3%) – ООЛТ II степени, средне-тяжелого течения (сумма баллов 5-8), дети были госпитализированы. В дебюте у 52 (100%) детей 7-9 лет наблюдали ООЛТ I степени, легкое течение (сумма баллов 3-5), согласно классификации. (Царькова С.А., 2015; Клинические рекомендации, союз педиатров, МЗ РФ, 2016; Клинические рекомендации. Острый ларингит, 2020).

На начало исследования 100% детей наблюдались у педиатра по месту жительства, 100% были консультированы ЛОР-врачом для исключения патологии гортани, по показаниям - дерматологом.

Уточненные критерии включения в исследование:

- дети с повторным ООЛТ I степени (3-8 раз в год), возраст 3-9 лет на начало наблюдения;
- давность заболевания более 1 года;
- частота ОРВИ 6-12 раз в год

Критерии исключения пациентов из исследования:

- дети с первичными иммунодефицитами;
- дети с тяжелыми соматическими заболеваниями в стадии суб- и декомпенсации (геморрагический синдром, диабет, заболевания печени, эндокринной системы, почек и других внутренних органов; аутоиммунные заболевания, активная и латентная форма туберкулеза);
- дети с тяжелыми аллергическими заболеваниями (тяжелая БА, диффузный АтД, АР тяжелой степени тяжести, полипоз носа II-IV степени);
- дети с ИВЛ в период новорожденности, БЛД;
- дети с диагностированным гастро-эзофагальным рефлюксом;
- дети, получавшие иммуностропные препараты 6 предыдущих месяцев.
- дети с психоневрологическими заболеваниями.

Обследование включало лабораторные и инструментальные методы: клинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи (по показаниям), ФВД (по показаниям), бактериологические посевы на флору и чувствительность к антибиотикам со слизистой зева, аллергологическое обследование (анамнез, кожные пробы, общий и специфические IgE). Иммунологические показатели определяли методом проточной цитометрии, моноклональные антитела с моно- и двойной меткой фирмы Beckman Coulter: CD3⁻HLA-DR⁺-, CD3⁺HLA-DR⁺-, CD3⁻CD16⁺-, CD3⁺CD16⁺-, TLR2⁺CD14⁺-, TLR4⁺CD14⁺-, CD14⁺CD119⁺- клетки. TLR2⁺ и TLR4⁺-клетки определяли с помощью моноклональных антител фирмы Nuncult biotech. Применяли стандартный метод прямой иммунофлюоресценции, моноклональные антитела, меченные биотином или флуоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ) или фикоэритрином по инструкции. Пробы анализировали на проточном цитометре Epics PROFILE-II (Cultronics) (FC 500 Beckman Coulter). Исследование хемиллюминесценции (спонтанная, индуцированная, индекс стимуляции) проводили по методике (Porter, C.D., 1992).

Сывороточные иммуноглобулины (А, М, G) определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (Mancini С., 1996).

Интерфероновый статус исследовали методом ИФА по стандартной методике с помощью тест-систем Гамма-интерферон-ИФА-БЕСТ и Альфа-интерферон-ИФА-БЕСТ(Россия). Аллергологическое обследование включало: сбор анамнеза, ргіск-тесты, общий и специфические IgE. Собран семейный анамнез (выписки из амбулаторных карт). Общий IgE в сыворотке определяли стандартным методом ИФА на тест-системе «ХЕМА», Россия; специфические IgE на тест-системах фирмы (Immunosap, HVD) на начало, далее каждые 6-12 месяцев по показаниям.

Клинический анализ крови делали по показаниям. Иммунологические показатели обследовали на начало, после приема Бронхо-ваксома, далее через 3 года. В контроле обследование - через 6 и 12 месяцев.

Функцию внешнего дыхания (ФВД) исследовали на начало, далее через 6-12 месяцев по показаниям. Риноцитогамму и переднюю риноскопию делали у детей с АР на начало наблюдения, далее по показаниям.

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программы «Standart» с использованием пакета программ «Statistica 6,0». Используются вариационный, одно- и многофакторный корреляционный виды статистического анализа с определением критериев достоверности по Стьюденту и интервальной оценке квадратичного отклонения и дисперсии нормального распределения по критерию χ^2 , U-критерия Манна-Уитни.

Для разработки дифференцированного алгоритма лечения обследованы разные группы. Общая группа, I - 80 детей с повторным ООЛТ и ОРВИ отбирали по обращаемости. II – 60 детей с повторным ООЛТ, ОРВИ и ИАР; III – 50 детей с повторным ООЛТ, ОРВИ и ЛОР-заболеваниями. Все дети получали традиционную терапию по стандартам лечения

Аллергическая сенсibilизация выявлена у 50% из 80 детей общей группы (ргіск-тесты и специфические IgE): у 20 (50%) - пыльца деревьев, у 7 (17,5%) – к пыльце злаков, у 8 (20%) – к пыльце сорных трав, у 15 (37,5%) – к бытовым аллергенам (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides*

pteronysinus), у 5 (12,5%) – к эпидермису кошки, у 4(10%) к эпидермису собаки. у 5 (6,25%) – к грибковым аллергенам. Диагностированы АЗ: у 22(55%) – интермиттирующий АР (ИАР); у 18(45%) – персистирующий (ПАР); у 13 (32,5%) – сочетание с ИАР и АтД (ограниченно-локализованная форма). У 15 (37%) детей диагностированы аденоиды 1-2 степени. У 40 детей общей группы без АЗ диагностированы: у 9 (22,5%) - аденоиды 1-2 степени, у 15 (37%) детей – хронический тонзиллофарингит, у 12 (30%) – хронический риносинусит, у 7 (17,5%) – рецидивирующий острый средний серозный отит,. Из 80 детей (I) через 3 года у 20/25% диагностировали atopическую интермиттирующую БА легкого течения (Клинические рекомендации. Бронхиальная астма, 2021).

У детей без АЗ в патогенезе повторного ООЛТ могут участвовать частые ОРВИ. Полиэтиологичность ООЛТ требует разработки этиотропной терапии, мы обследовали и наблюдали детей с повторным ООЛТ, ОРВИ и ИАР (II) и детей с повторным ООЛТ, ОРВИ и ЛОР-заболеваниями (III).

Нами разработана анкета с целью объективизации анамнеза и систематизации жалоб, для отбора пациентов и выяснения особенностей семейного анамнеза. У 48,5% родственников детей выявлены АЗ (БА, АР, АтД), чаще со стороны матери.

В посевах из зева показана персистенция инфекции у детей с повторными ООЛТ и ОРВИ. Монокультура выделена у 42%, два и более возбудителя – у 54%, *Candida albicans* – у 10%, сочетанная бактериальная и грибковая флора - у 10% детей. У 15% детей роста флоры не обнаружено. Количественные показатели колебались от 4×10^3 КОЕ/мл до 6×10^5 КОЕ/мл. У детей с частотой ОРВИ 3-5 раз в год без повторного ООЛТ и очагов хронической инфекции отмечена меньшая частота высеваемости *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans* ($p < 0,05$)

У детей с повторным ООЛТ и ОРВИ отмечено снижение IgA и G в 3-6 лет в сравнении с возрастом 7-9 лет ($p < 0,05$). У детей без повторного ООЛТ с

частотой ОРВИ 3-5 раз в год (группа сравнения) наблюдался более высокий уровень IgG, IgA, показателей спонтанной и индуцированной хемилюминесценции, спонтанной продукции ИФН- γ , индуцированного синтеза ИФН- α и ИФН- γ ($p < 0,05$). Установлена обратная связь средней силы между уровнем сывороточного IgG и частотой эпизодов повторного ООЛТ, $r = -0,6432 \pm 0,06$ ($p < 0,05$). Достоверной разницы других показателей не отмечено. У детей без ООЛТ достоверно более низкий уровень IgE, ниже экспрессия TLR2, TLR4, CD119 на CD14⁺-клетках, разница достоверна с детьми с повторными ООЛТ и ОРВИ, повышена экспрессия TLR2, TLR4, CD119 на CD14⁺-клетках ($p < 0,05$).

У 45-50% детей разного возраста с повторными ООЛТ и ОРВИ выявлено снижение синтеза ИФН- γ , у 30-40% - синтеза ИФН- α . У 60% детей 3-6 лет и 10% 7-9 лет снижен уровень IgA, у 10-15% - снижен IgG. Повышение экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках указывает на процессы дисрегуляции в иммунной системе.

Была исследована частота ОРВИ, как триггерных факторов для прогрессирования АЗ и формирования БА у пациентов с повторным ООЛТ (на начало наблюдения 6-12 эпизодов в год). Через 3 года у 20/25% из 80 детей общей группы (I) сохранялись повторный ООЛТ и ОРВИ, частота ООЛТ $1,65 \pm 0,4$, ОРВИ $2,7 \pm 0,35$ в год; уровень IgE $73 \pm 8,4$ МЕ/мл. У 40 (50%) наблюдали ООЛТ в сочетании с бронхитом с синдромом обструкции (не более 3 эпизодов бронхита у ребенка за 3 года), частота ООЛТ $2,8 \pm 0,5$; ОРВИ $5,6 \pm 0,96$ в год; уровень IgE $98 \pm 10,2$ МЕ/мл, разница достоверна по сравнению с детьми с БА ($p < 0,05$). У 20 (25%) пациентов диагностировали интермиттирующую atopическую БА легкого течения (9 детей 3-6 лет и 11 детей 7-9 лет) с обострениями после ОРВИ и при поллинозе, Частота ОРВИ выше при БА ($p < 0,05$). Общий IgE колебался у детей без БА – 50-80 МЕ/мл, при бронхите с синдромом обструкции - 70 -500 МЕ/мл, а при БА был выше – 60-2000 МЕ/мл ($p < 0,05$ Дифференциальный диагноз проводили (Царькова С.А., 2015; Клинические рекомендации. Бронхиальная астма, 2021).

Учитывая формирование БА через 3 года у 25% детей с повторным ООЛТ, ОРВИ в общей группе (I), для разработки алгоритма лечения была набрана группа II, дети 3-6 лет с легкой степенью ИАР, сразу после установления диагноза, и был включен в лечение монтелукаст курсами под контролем симптомов для снижения аллергического воспаления (Аллергический ринит, клинические рекомендации, 2016-2017, 2020). Известно, что у детей обструкция верхних и нижних дыхательных путей в сочетании с ОРВИ сопровождается повышением лейкотриенов, который коррелирует с выраженностью кашля и обструкции (Andersson С.К., 2020). У 15-38% пациентов с АР развивается БА. АД, ОРВИ могут быть триггерными факторами БА. Через 3 года частота ООЛТ и ОРВИ была ниже у детей, получавших монтелукаст, $p < 0,05$. В группе сравнения снижается выраженность симптома чихания и нарастает потребность в медикаментах ($p < 0,05$). У получавших монтелукаст снижается выраженность чихания и ринореи ($p < 0,05$), потребность в медикаментах повышалась у 8 (26,6%) пациентов и у 25 детей группы сравнения ($p < 0,05$). Продолжительность кашля при ОРВИ составила – $20,8 \pm 0,9$ и соответственно в группе сравнения – $15,2 \pm 1,5$ дней ($p < 0,05$). Уровень ИФН- α – $3,4 \pm 0,6$ пкг/мл, синтез клетками ИФН- γ – 418 ± 102 пкг/мл и соответственно в группе сравнения – ИФН- α – $1,5 \pm 0,8$ пкг/мл, синтез клетками ИФН- γ – 160 ± 92 пкг/мл ($p < 0,05$), Число детей с развитием БА выше в группе сравнения – 7(23%), среди получавших монтелукаст – 3 (10%) ($\chi^2 > 3,8$; $p < 0,05$). Дифференциальный диагноз проводили (Клинические рекомендации. Бронхиальная астма, 2021).

При разработке алгоритма лечения детей с повторным ООЛТ была набрана группа (III) с повторными ОРВИ и ЛОР-заболеваниями. В комплексном лечении был назначен бактериальный лизат (Бронхо-ваксом), что привело к снижению частоты хронического риносинусита – в 2,2 раза, ОРВИ – в 2,4 раза, потребности в антибиотиках – в 1,75 раза. Наряду с этим отмечалось уменьшение иммунодисрегуляции врожденного иммунитета,

снижение экспрессии TLR2 и TLR4, повышение синтеза ИФН- γ . TLR2 распознают липотейхоевую кислоту грамположительных бактерий, их дисфункция приводит к персистенции стафилококков (Снарская Е.С., 2012), что наблюдается по нашим данным у детей с повторным ООЛТ. Известно значение TLR4 и ИФН- γ в защите от вирусов. Экспрессия TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках при повторном ООЛТ и ОРВИ изучена впервые.

Полученные Чувировой А.Г. результаты, изложенные в диссертационной работе «Аллергическая сенсibilизация и дифференцированный подход к ведению детей с повторными эпизодами острого ларинготрахеита» наглядно демонстрируют целесообразность выявления аллергической сенсibilизации и иммунодисрегуляции (снижение синтеза ИФН- γ , ИФН- α , IgA и IgG в сыворотке, повышение экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках), что позволяет обосновать дифференцированный алгоритм лечения. Чувирова А.Г. доказала, что детям с повторным ООЛТ, ОРВИ и АЗ необходимо наблюдение у аллерголога-иммунолога; назначение в лечении монтелукаста по клиническим показаниям при АР, а при сопутствующих ЛОР-заболеваниях – назначение Бронхо-ваксома.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа выполнена с использованием современных и высоко технологичных методов клинической иммунологии и аллергологии (проточная цитометрия, prick-тесты, специфические IgE методом ИФА). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови исследовали стандартными методами включая: относительное и абсолютное количество CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-, CD16⁺-, CD19⁺-, CD3⁺CD16⁺-, CD3⁻CD16⁺-, CD3⁺HLA-DR⁺-, CD3⁻HLA-DR⁺-, CD14⁺CD119⁺-, TLR2⁺CD14⁺-, TLR4⁺CD14⁺-клеток, сывороточные иммуноглобулины, спонтанная хемилюминесценция, индуцированная хемилюминесценция, индекс стимуляции, уровень общего и специфических IgE, показатели интерферонового статуса (сывороточный ИФН- α и ИФН- γ , спонтанная продукция, индуцированный синтез ИФН- α и ИФН- γ).

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программы «Standart» с использованием пакета программ «Statistica 6,0». Используются вариационный, одно- и многофакторный корреляционный виды статистического анализа с определением критериев достоверности по Стьюденту и интервальной оценке квадратичного отклонения и дисперсии нормального распределения по критерию χ^2 , U-критерия Манна-Уитни.

Результаты получены на сертифицированном оборудовании. Показана воспроизводимость результатов. Выборка пациентов репрезентативна, достаточного объема, для получения достоверных результатов и обоснованных заключений. Полученные данные обработаны с применением адекватных статистических методов и достоверны.

Научная новизна работы

Впервые изучена роль аллергической сенсибилизации и аллергического воспаления у детей с повторным ООЛТ и ОРВИ и при формировании БА, результаты использованы для разработки способа профилактики БА.

Впервые предложен дифференцированный подход к ведению пациентов с повторным ООЛТ и ОРВИ в сочетании с ИАР с назначением монтелукаста, а у детей с повторным ООЛТ и ОРВИ в сочетании с хроническими ЛОР-заболеваниями - с назначением Бронхо-ваксома, рекомендовано наблюдение пациентов у аллерголога-иммунолога.

Впервые доказана перспективность результатов углубленного клинического, функционального, аллергологического и иммунологического обследования, включая микробиоту слизистой ротоглотки, функцию внешнего дыхания, синтез ИФН- γ , ИФН- α , CD3⁻CD16⁺-, TLR2⁺CD14⁺-, TLR4⁺CD14⁺- CD119⁺CD14⁺-клетки у детей с повторными ООЛТ и ОРВИ.

Впервые для характеристики иммунной системы детей с повторным ООЛТ и ОРВИ введены показатели, подтверждающие дисрегуляцию врожденного иммунитета, повышение экспрессии на CD14⁺-клетках TLR2 у 60-66% и TLR4 у 65-70% детей разного возраста; снижение синтеза ИФН- γ .

Теоретическая значимость работы

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в получении доказательств и расширении знаний об иммунопатогенезе повторных эпизодов ООЛТ. У 50% пациентов выявлена аллергическая сенсibilизация и АЗ, иммунопатогенез ООЛТ связан с аллергическим воспалением. У остальных детей в патогенезе повторного ООЛТ участвуют частые ОРВИ и вирусные инфекции.

Раскрыты и выявлены проблемы формирования у 50% детей бронхита с обструктивным компонентом и БА - у 25% детей с повторным ООЛТ в сочетании с ОРВИ и АЗ при стандартной терапии.

Изучены причинно-следственные связи и использован комплекс методов исследования врожденного иммунитета с выявлением дисрегуляции, повышением экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках, снижением синтеза ИФН- γ , что указывает на возможность нарушения процесса передачи сигнала в клетке (сигналинга).

Проведена модернизация и предложен дифференцированный подход ведения детей с повторным ООЛТ в сочетании с АЗ, при этом снижается число пациентов с БА и повышается число детей без эпизодов ООЛТ.

Полученные результаты полезны для дальнейшего изучения новых диагностических маркеров как врожденного, так и системного иммунитета при повторном ООЛТ в сочетании с ОРВИ и АЗ или с хроническими ЛОР-заболеваниями и для изучения иммунитета при патологических состояниях.

Практическая значимость работы

Практическая значимость результатов исследования определяется полученными новыми данными по иммунопатогенезу повторных эпизодов ООЛТ.

Определено и доказано, что диагностика аллергической сенсibilизации, общего и специфических сывороточных IgE, консультация аллерголога-иммунолога необходимы для выбора эффективной тактики

лечения детей с повторным ООЛТ. Мониторинг в течение 3 лет выявил у 50% детей сочетание частых ОРВИ, повторного ООЛТ и бронхита с обструктивным компонентом. У 25% детей диагностирована БА. Результаты необходимо учитывать для выработки тактики лечения.

Создана методика дифференцированного подхода к ведению детей с повторным ООЛТ и ОРВИ: при сопутствующем ИАР при назначении монтелукаста уменьшается аллергическое воспаление и частота развития БА; при сопутствующих хронических ЛОР-заболеваниях назначение бактериального лизата (Бронхо-ваксом) уменьшает дисрегуляцию врожденного иммунитета, снижается число обострений хронического тонзиллофарингита, хронического риносинусита, потребность в антибиотиках, частота ОРВИ.

Представлена анкета-опросник для родителей, которая акцентирует внимание педиатра на необходимости проведения комплекса мероприятий по диагностике и профилактике БА, совместном ведении пациентов с повторным ООЛТ и ОРВИ с аллергологом-иммунологом.

Результаты исследования могут быть использованы в системе постдипломного обучения врачей аллергологов-иммунологов по вопросу ведения детей с повторными эпизодами ООЛТ.

Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности

Тема диссертации соответствует паспорту специальности «3.2.7 – аллергология и иммунология» (согласно паспорту научной специальности: «посвящена изучению иммунитета (системы защиты организма от биологической агрессии) и его нарушений (аллергии, иммунодефицитов, аутоиммунных процессов), а также созданию методов диагностики, профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями в системе иммунитета»).

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По материалам диссертации опубликованы 1 глава в монографии, 11 научных статей, в том числе 3 статьи в изданиях, рецензируемых в базе

SCOPUS, 3 статьи в научных журналах, которые включены в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций («Аллергология и иммунология в педиатрии», «Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского», «Российский аллергологический журнал»), 2 статьи в периодической научной печати, 2 публикации в материалах международных конгрессов.

Получен патент на изобретение «Способ профилактики бронхиальной астмы у детей с рецидивирующим ларинготрахеитом и сопутствующими аллергическими заболеваниями»; Чувирова А.Г. - «победитель в постерной секции Международной олимпиады по аллергологии и иммунологии для студентов и молодых ученых до 33 лет» (Москва, 18-21 октября 2018 г.).

Основное содержание диссертационной работы отражено в следующих публикациях:

1. Чувирова А.Г. Иммунотропные препараты в профилактике и лечении респираторных инфекций // Маркова Т.П., Ярилина Л.Г. Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2012 - №3 (30). - С.7-12.
2. Чувирова А.Г. Профилактика гриппа. //Ярилина Л.Г., Маркова Т.П. Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2014. - №1 (36). - С.7-10.
3. Чувирова А.Г. Бактериальные лизаты. Новые препараты. // Маркова Т.П., Ярилина Л.Г. РМЖ. Медицинское обозрение. – 2014. – т.22. - № 24. - С.1764-1767.
4. Chuvirova A. Immunochromatography ALPHA rapid test in diagnostic of seasonal allergic rhinitis. // Markova T., Kim M., Yarilina L. «e-PAD: EAACI Practical allergy diagnosis» 27-29.08.2015г., Moscow, Abstract book, P.19.
5. Чувирова А.Г. Особенности патогенеза и врожденного иммунитета при бронхиальной астме. // Маркова Т.П., Ким М.Н., Чувиров Д.Г., Ярилина Л.Г. Педиатрия. Ж. им. Г.Н.Сперанского, - 2016. - т.95. - № 4. - С.110-115.

6. Чувирова А.Г. Бактериальные лизаты в педиатрии. //Маркова Т.П., Ярилина Л.Г., Ким М.Н., Чувиров Д.Г. Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского, - 2016. - т.95. - № 5. - С.91-98.
7. Чувирова А.Г. Исмиген в комплексном лечении бронхиальной астмы. / /Маркова Т.П., Ким М.Н. Педиатрия. Ж. им Г.Н.Сперанского. – 2017. - т.96. - № 4. – С.159-165.
8. Чувирова А.Г. Роль атопической сенсibilизации при рецидивирующем ларинготрахеите у детей. // Ярцев М.Н. Аллергология и иммунология в педиатрии.- 2018. - №1 (52). – С. 33-40.
9. Chuvirova A.G. "The impact of atopic sensitisation on recurrent laryngotracheitis in children" Filodiritto International Proceedings: "Allergy, asthma, copd, immunophysiology & immunorehabilitology: innovative technologies". – 2019. - P. 69-78.
10. Чувирова А.Г. Применение иммуностропных препаратов при ЛОР-патологии. //Маркова Т.П., Гаращенко Т.И., Чувиров Д.Г. Руководство по вакцинации и иммунотерапии при ЛОР-патологии. Под редакцией Костинова М.П., Абабия И.И. - Москва. - Издательство "МДВ". – 2019. – С.211-248.
11. Чувирова А.Г. Значение алергодиагностики у детей с рецидивирующим ларинготрахеитом и сопутствующими алергическими заболеваниями. РАЖ. – 2019. - Том 16, - №1. - Часть 2. – С. 163-65.
12. Чувирова А.Г. Способ профилактики бронхиальной астмы у детей с рецидивирующим ларинготрахеитом и сопутствующими алергическими заболеваниями.// Ярцев М.Н. -2020. – заявка на изобретение. N 2020123084/14 (039756)
13. Чувирова А.Г. Антилейкотриеновые препараты у детей в комплексном лечении рецидивирующего ларинготрахеита для профилактики бронхообструкции. //Ярцев М.Н. Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2021.- том 64. - № 1. – С.44-52.

Материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены: на Национальной конференции «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы», 30.05.-02.06.2016 г., Казань (Россия); на XX Форуме "Национальные дни лабораторной медицины России - 2016", 15-17 сентября 2016 г., Москва (Россия); на V Всероссийской конференции по детской аллергологии и иммунологии для практикующих врачей, 18-19 ноября 2016 г., Москва (Россия); на конгрессе детских инфекционистов России, 8-10 декабря 2016 г., Москва (Россия); на межрегиональном форуме «Клиническая аллергология и иммунология – междисциплинарные проблемы», 22-24 марта 2017 г., Москва (Россия); на VI Всероссийском конгрессе по детской аллергологии и иммунологии, 24-25 ноября 2017 г., Москва (Россия); на Всероссийской конференции «Клиническая иммунология и аллергология – практическому здравоохранению», 27-28 февраля 2018 г., Москва (Россия); на Национальной конференции «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарная проблема» 26.02-01.03.2019 г., Москва (Россия); на Междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии с международным участием, 22-24 мая 2019 г., Москва (Россия); на Междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии 24-27 июня 2020 г., Москва (Россия).

**Ученый совет отмечает, что на основании выполненных
соискателем исследований:**

– разработана новая научная идея, обогащающая научную концепцию иммунопатогенеза повторного ООЛГ и доказывающая участие аллергического воспаления и сопутствующих аллергических заболеваний, сопровождаемых повышением уровня IgE, и формированием БА у 25% детей с повторным ООЛГ и ОРВИ;

– предложен алгоритм диагностики и использования результатов углубленного клинического, функционального, аллергологического и иммунологического обследования, включая микробиоту слизистой

ротоглотки, синтез ИФН- γ , ИФН- α , содержание CD3⁻CD16⁺-, TLR2⁺CD14⁺-, TLR4⁺CD14⁺- CD119⁺CD14⁺-клеток, у детей с повторными ООЛТ и ОРВИ;

– доказана перспективность изучения врожденного иммунитета у пациентов с повторным ООЛТ и ОРВИ;

– введено понятие о иммунодисрегуляции врожденного иммунитета у детей с повторным ООЛТ и ОРВИ;

– определена обратная причинно-следственная связь между уровнем сывороточного IgG и частотой повторных эпизодов ООЛТ и ОРВИ.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– доказаны существенные особенности иммунной системы, проявлений аллергического воспаления, аллергической сенсibilизации, аллергических заболеваний, а также динамики уровня IgE у детей с повторным ООЛТ, что расширило представления об иммунопатогенезе данного заболевания;

– применительно к тематике диссертации результативно использован комплекс современных методов, включая аллергологические, иммунологические и функциональные методы для оценки особенностей клинических проявлений повторного ООЛТ у детей;

– изложены научно-обоснованные доказательства дисрегуляции врожденного иммунитета с повышением экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках и снижением синтеза ИФН- γ у детей с повторными ООЛТ и ОРВИ;

– раскрыта возможная генетическая предрасположенность к АЗ у детей с повторным ООЛТ и ОРВИ: у 48,5% близких родственников детей диагностированы АЗ, у 25% детей с повторным ООЛТ и ОРВИ диагностирована БА;

– изучены изменения клинiко-иммунологических показателей в динамике у детей от 3-х до 9 лет с повторным ООЛТ и ОРВИ: снижен синтез ИФН- γ и ИФН- α , снижен сывороточный IgA, сывороточный IgG;

– проведена модернизация подхода к ведению пациентов с повторными ООЛТ и ОРВИ при сочетании с АЗ или хроническими ЛОР-заболеваниями.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработан алгоритм диагностики для верификации широкого спектра причинно-значимых этиологических факторов и выбора тактики лечения пациентов с повторными ООЛТ и ОРВИ;
- определены перспективы практического использования оценки врожденного иммунитета у пациентов с повторными ООЛТ и ОРВИ;
- создан дифференцированный подход к назначению Бронхо-ваксома в лечении повторных ООЛТ и ОРВИ в сочетании с ЛОР-патологией;
- представлены практические рекомендации назначения монтелукаста у детей с повторными ООЛТ и ОРВИ в сочетании с ИАР;
- разработана анкета-опросник, которая акцентирует внимание педиатра на совместном ведении пациентов с повторным ООЛТ и ОРВИ с аллергологом-иммунологом.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования;
- теория построена на известных, проверяемых фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- идея базируется на изучении иммунопатогенеза, анализе практики, обобщении передового опыта;
- использовано сравнение данных, полученных автором, и других исследователей по рассматриваемой тематике;
- установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными независимыми источниками по данной тематике;
- использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, выборка является репрезентативной, группы обследованных подобраны правильно, их численность достаточна для выработки обоснованных заключений.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования, в получении исходных данных и в научных экспериментах, в апробации результатов исследования, с последующей обработкой и интерпретацией полученных данных, в проведении анализа современной литературы по теме исследования, в подготовке основных публикаций по теме выполненных работ.

Соответствие диссертации предъявляемым требованиям и рекомендация к защите

Диссертация Чувировой А.Г. «Аллергическая сенсibilизация и дифференцированный подход к ведению детей с повторными эпизодами острого ларинготрахеита» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7 – алллергология и иммунология» охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием соответствующего методологически обоснованного плана научного исследования, непротиворечивой методологической платформы, основной идейной линии, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов, собственных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Работа содержит 27 таблиц, иллюстрирована 5 рисунками. Список литературы включает 163 источников, 84 отечественных и 79 зарубежных авторов.

Положительная оценка диссертации вытекает из ее актуальности, достоверности полученных данных, обоснованности выводов и наличия практических рекомендаций, подтверждает теоретическую и практическую значимость исследования. Диссертационная работа соответствует специальности «3.2.7 –аллергология и иммунология», по которой она рекомендуется к защите. Исходя из вышеперечисленного

ПОСТАНОВИЛИ: диссертация Чувировой А.Г. «Аллергическая сенсibilизация и дифференцированный подход к ведению детей с повторными эпизодами острого ларинготрахеита» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7 – аллергология и иммунология» представляет собой научно-квалификационную работу, в которой осуществлено решение актуальных задач, имеющих существенное значение для клинической иммунологии и аллергологии: представлены важные доказательства дисрегуляции иммунной системы с повышением экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках, снижение синтеза ИФН- γ , ИФН- α , уровней сывороточных IgA и IgG у пациентов с повторными ООЛТ; представлена систематическая, клинико-функциональная, аллергологическая, иммунологическая характеристика пациентов с повторным ООЛТ; представлены важные данные о роли аллергической сенсibilизации в иммунопатогенезе повторного ООЛТ, выявленной у 50% пациентов; доказано, что при наблюдении в течение 3 лет и лечении у 25% детей диагностирована БА; разработан алгоритм диагностики и дифференцированный подход к терапии повторного ООЛТ, ОРВИ и ИАР с назначением монтелукаста, снижающие количество пациентов с формированием БА; дифференцированный подход к ведению детей с повторными ООЛТ и ОРВИ в сочетании с ЛОР-патологией, включающий назначение Бронхо-ваксома, что приводит к уменьшению проявлений дисрегуляции врожденного иммунитета, снижению экспрессии TLR2 и TLR4 на CD14⁺-клетках, повышению синтеза ИФН- γ , ИФН- α и повышению уровней сывороточных IgA и IgG, снижению частоты ОРВИ и обострений ЛОР-заболеваний; рекомендовано включить наблюдение у аллерголога-иммунолога детей с повторным ООЛТ.

Диссертация Чувировой Анастасии Геннадьевны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013

года №842 с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), и может быть представлена к защите в специализированном диссертационном совете.

Заключение принято на заседании секции №3 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Присутствовало на заседании 19 из 20 членов секции №3 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (в том числе 13 докторов наук и 6 кандидатов наук по специальности рассматриваемой диссертации). Результаты голосования: «за» 18 человек, «против» – 0 человек, «воздержалось» – 1 человек, протокол №5 от 01.12.2021 года.

Председатель секции №3 Ученого совета
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
член-корр. РАН, профессор, д.м.н.

И.С. Гуцин

Секретарь секции, к.м.н.

И.И. Исакова

Подпись *Исаева И.И.*
ЗАВЕРЯЮ
Учёный секретарь ФГБУ
«ГНЦ Институт иммунологии»
ФМБА России
Исаева И.И.
«11» декабря 2021 г.

