

## **ОТЗЫВ**

### **официального оппонента**

на диссертацию Майлян Эдуарда Апетнаковича на тему «Клинико-иммунологические и генетические аспекты постменопаузального остеопороза», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

### **Актуальность избранной темы**

Одной из основных задач современной медицины является поиск, разработка и внедрение эффективных методов предупреждения и терапии постменопаузального остеопороза. Несмотря на имеющийся арсенал средств профилактики и лечения, тем не менее, показатели распространенности остеопороза у женщин в постменопаузе остаются крайне высокими. В Российской Федерации каждая третья женщина в возрасте старше 50 лет страдает остеопорозом. Причем, показатели заболеваемости, так же как и остеопоротических переломов, по мнению ведущих ученых, будут только расти. В настоящее время 7% российских женщин, начиная с возраста 50 лет, в течение последующей жизни имеют вероятность сломать бедренную кость. Предполагается, что к 2035 году в РФ только из-за увеличения продолжительности жизни число переломов проксимальных отделов бедренной кости у женщин вышеуказанной возрастной группы вырастет на 43%.

Современная наука рассматривает постменопаузальный остеопороз как мультифакторное заболевание, в основе которого лежит снижение продукции эстрогенов. На риск развития заболевания влияют особенности образа жизни и питания, вредные привычки. Большое значение имеют генетические факторы. В последние годы обсуждается центральная роль иммунных нарушений в патогенезе остеопороза. Действительно, в различных экспериментальных работах, особенно в культурах клеток и на моделях у животных, доказано ключевое значение в нарушении процессов ремоделирования костной ткани популяций Т-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов (IL-1, IL-6, IL-17, IL-10, TNF, и т.д.). Сейчас не вызывает сомнений и то, что активность остеокластов прямо зависит от степени воздействия на них цитокина RANK. При этом системе RANK-RANKL-остеопротегерин отводят наиважнейшую роль в регуляции остеокластогенеза. Поэтому в последние годы обоснованно появилась необходимость в изучении роли иммунных механизмов в патогенезе постменопаузального остеопороза уже на клиническом уровне. А имеющиеся достижения остеоиммунологии свидетельствуют о необходимости и целесообразности их использования в клинической практике. Таким образом, актуальность диссертационной работы Майлян Э.А. для науки и практического здравоохранения не вызывает сомнений исходя из поставленной цели и решаемых задач.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Диссертация Майлян Э.А. является законченным научным исследованием, целью которого явилась разработка метода определения риска развития

постменопаузального остеопороза и ответа костной ткани на антиостеопоротическую терапию исходя из результатов комплексного исследования патогенетических факторов заболевания, в том числе и в первую очередь иммунных. Причем, основная часть выполненной работы посвящена изучению на молекулярном и генетическом уровне иммунологических особенностей этиопатогенеза остеопороза у женщин в постменопаузе.

Сформулированные задачи четко соответствуют поставленной цели. Выбранные методологические подходы и методы исследования адекватны поставленным задачам.

Работа проведена на достаточном количестве обследованных женщин постменопаузального возраста. Диссертантом был разработан и использован вопросник для анкетирования. Анкета позволила охватить все известные и возможные клиничко-anamнестические характеристики женщин, которые могут иметь ассоциации с вероятностью развития остеопоротических нарушений. Женщины были обследованы методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии, который является «золотым стандартом» для определения минеральной плотности костной ткани, обеспечивает высокую точность и воспроизводимость результатов. Лабораторные исследования включали проведение современных иммунологических, молекулярно-генетических, биохимических тестов, выполнение которых осуществлялось на высокоточном оборудовании (амплификатор детектирующий ДТ-96, автоматический биохимический анализатор «ChemWell-2910», анализатор иммуноферментный «LabLine-022» и др.).

Обоснованность положений, выводов и рекомендаций подтверждается также и проведенными современными методами статистического анализа. Для математической обработки результатов применялись параметрические и непараметрические методы, метод бинарной логистической регрессии.

Выводы работы обоснованы и вытекают из полученных результатов, логично завершают работу.

По теме диссертации опубликовано более 50 печатных работ, из которых 28 статей в журналах, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации. В соавторстве издана монография. Материалы диссертации представлены на международных, всероссийских, региональных научно-практических конференциях, съездах, конгрессах, форумах.

Результаты диссертационной работы внедрены в работу ряда лечебно-профилактических учреждений Российской Федерации, а также в педагогический процесс медицинских ВУЗов России, ДНР и ЛНР.

Диссертация изложена на 309 страницах печатного текста, структурирована в соответствии с требованиями и содержит «Вступление», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», четыре раздела с результатами собственных исследований, «Анализ и обсуждение полученных результатов», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список литературных источников». В конце работы приведен перечень условных сокращений.

Вступление характеризуется обозначением актуальности и обоснованием темы исследования. Четко сформулирована цель и правильно указаны основные задачи, положения, вынесенные на защиту, научная новизна и практическая значимость работы. Приведена информация о личном вкладе автора, количестве публикаций, практических внедрений.

В разделе «Обзор литературы» автором проанализированы современные данные о распространенности, медицинской и социально-экономической значимости постменопаузального остеопороза. Автор дал характеристику постменопаузальному остеопорозу как мультифакторной патологии, описал генетические аспекты заболевания женщин. Показал перспективы внедрения и использования генетического тестирования для науки и клинической практики.

Очень глубоко и детально в обзоре представлены последние достижения остеоиммунологии. Приведенные данные убедительно доказывают, что патогенез постменопаузального остеопороза, основной причиной которого является дефицит эстрогенов, представляет собой изменения сложных механизмов взаимодействий в системе «Эстрогены – Иммунная система – Кость», а не только и не столько ослабление непосредственного защитного эффекта эстрогенов на костные клетки. Логичное освещение накопленных сведений об иммунных особенностях патогенеза остеопороза дает возможность сделать заключение о необходимости дальнейших исследований в области остеоиммунологии для более глубокого изучения механизмов регуляции костного ремоделирования иммунными факторами. Кроме того, представленные данные свидетельствуют о том, что уже сейчас есть научно обоснованные предпосылки для использования результатов научных изысканий с целью разработки новых подходов в профилактике и терапии, в том числе исходя из того, что остеопороз у женщин в постменопаузе является хроническим воспалительным заболеванием.

В разделе «Материалы и методы исследования» приведена характеристика контингента обследованных женщин, критерии включения и исключения из исследования, представлен дизайн работы. Раздел дает полное представление о методологии, структуре работы, объеме и последовательности исследований. Выбранный спектр исследованных показателей и использованные информативные и адекватные методы полностью соответствуют поставленным задачам и обеспечивают современный уровень исследования. А корректно обозначенные и примененные способы статистической обработки полученных результатов позволяют в полном объеме достичь достоверности выводов.

В разделе 3 приведена характеристика клинико-anamnestических данных, особенностей образа жизни, питания у женщин постменопаузального возраста, имеющих остеопороз. При помощи структурированного вопросника были изучены и проанализированы возраст, рост, вес, индекс массы тела, длительность постменопаузы, анамнестические данные женщин в фертильном и постменопаузальном возрасте: возраст менархе и менопаузы, длительность постменопаузы, особенности менструального цикла, сексуальной жизни, возраст вступления в брак, количество детей и длительность кормления грудью, аборт, уровень физической активности в прошлом и настоящем, пищевой рацион, вредные привычки и т.д.

Результатам молекулярно-генетического обследования женщин посвящен раздел 4. Установлены генетические факторы риска развития постменопаузального остеопороза, к которым относятся и полиморфизмы в генах, кодирующих иммунные показатели: rs9594738 и rs9594759 гена *TNFSF11*, rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B*. Впервые показано, что проявления ассоциаций генетических полиморфизмов с остеопорозом существенно зависят от длительности постменопаузы, а их изучение целесообразно проводить и с остеопоротическими нарушениями отдельно в различных участках скелета женщин. В этом же разделе представлены формула для расчета риска заболевания у женщин в постменопаузе и генетические предикторы низкого лечебного эффекта антиостеопоротической терапии препаратом «Бонвива».

В разделе 5 отражена сравнительная характеристика уровней исследованных цитокинов у здоровых женщин и женщин, имеющих остеопороз и остеопению. Полученные данные позволили сделать вывод, что при постменопаузальном остеопорозе увеличены концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL и снижены уровни противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10. Следует отметить, что сравнение уровней цитокинов было удачно дополнено выполненным корреляционным анализом с изучением взаимосвязей отдельных цитокинов между собой и корреляций цитокинов с минеральной плотностью костной ткани в отдельных зонах денситометрии. Это позволило в полной мере оценить изменения цитокинового баланса при постменопаузальном остеопорозе, роль иммунных нарушений в его патогенезе. Необходимо отметить и выявленные особенности иммунных факторов у женщин с различными генотипами. Зависимость интенсивности продукции тех или иных цитокинов от генетических полиморфизмов заставляет новым взглядом оценить сложность патогенеза остеопороза и его неоднозначность. Полученные данные отражают патогенетические механизмы постменопаузального остеопороза и существенную роль в них иммунных факторов. Все это открывает серьезные перспективы для повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий, в том числе для разработки эффективных индивидуализированных подходов в терапии остеопороза.

В следующем разделе детально представлены особенности показателей клинического анализа крови, биохимических параметров, уровней гормонов, маркеров костного обмена и витамина D у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани. Полученные данные свидетельствуют о характерных изменениях (анемия, повышение активности щелочной фосфатазы, снижение концентраций калия, железа, кальция и т.д.) изученных показателей при остеопорозе, в том числе в зависимости от генетических полиморфизмов.

В разделе «Анализ и обсуждение результатов исследования» диссертантом проведен систематизированный анализ всех полученных данных исходя из последних научных достижений, который обосновывает сделанные выводы. Далее представлены «Выводы», которые логично вытекают из материалов, приведенных в диссертации, соответствуют поставленным задачам, четко

сформулированы, изложены в логической последовательности и имеют доказательную базу, подтвержденную глубоким статистическим анализом, содержат весомые элементы новизны и имеют важное научно-практическое значение для науки и современной медицины.

В разделе «Практические рекомендации» представлены рекомендации для использования их в работе врачей различных специальностей – терапевтов, врачей общей практики–семейной медицины, иммунологов, эндокринологов, гинекологов, травматологов и др.

### **Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

Автор диссертации впервые выполнил многовекторное исследование этиопатогенеза постменопаузального остеопороза. Впервые произвел одновременную комплексную оценку роли внешних воздействий (особенности питания, образа жизни и т.д.), генетической составляющей, различных гормональных показателей, иммунных факторов и продемонстрировал важную, а может быть даже и ведущую роль последних в механизмах развития заболевания. Полученные результаты впервые подчеркивают существенное значение иммунных факторов как на генетическом, так и молекулярном уровне. Одним из подтверждений этому является то, что в впервые созданной модели для прогноза риска развития постменопаузального из четырех предикторов два являются полиморфизмами в гене *TNFSF11* (rs9594738, rs9594759), который кодирует цитокин RANKL. Кроме того, из 16 изученных полиморфизмов ассоциации с постменопаузальным остеопорозом обнаружили 7 полиморфизмов, из которых 4 – это полиморфизмы в генах иммунных факторов (rs9594738, rs9594759, rs3134069, rs3102735).

К наиболее важным научным результатам исследования, характеризующим его новизну, могут быть отнесены:

-впервые на современном методологическом, научном уровне выполнен комплексный анализ этиопатогенетических (клинико-анамнестических, генетических, иммунологических, гормональных, биохимических и т.д.) факторов постменопаузального ОП, что позволило расширить наши представления о патогенезе заболевания;

-впервые обоснована необходимость и выполнена оценка роли генетических полиморфизмов ряда генов (*IL-6*, *VDR* и др.) не только с постменопаузальным ОП, но и с остеопоротическими изменениями в отдельных участках скелета женщин;

-впервые установлена зависимость проявлений ассоциаций генетических полиморфизмов с остеопоротическими нарушениями от длительности постменопаузального периода;

-впервые определены особенности уровней про- и противовоспалительных цитокинов, гормонов, клинико-лабораторных, биохимических показателей, маркеров костного обмена, VD у женщин с различными полиморфными вариантами генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR*;

-впервые выполнена оценка результатов лечения постменопаузального ОП препаратом ибандроната в зависимости от генетических полиморфизмов генов

*COL1A1, CYP19A1, ESRI, IL-6, LRP5, TNFSF11, TNFRSF11B, VDR* и определены генетические предикторы эффективности терапии;  
-впервые создана математическая модель для расчета риска развития у женщин постменопаузального ОП.

Полученные результаты существенно расширяют наши знания о патогенезе постменопаузального ОП как мультифакторного заболевания, демонстрируя важную роль иммунных механизмов.

Следует отметить, что выявленное влияние длительности постменопаузы на проявление генетических ассоциаций и обоснование необходимости оценки ассоциаций генетических факторов с постменопаузальным ОП дифференцированно по различным участкам скелета позволяет усовершенствовать методологию выполнения научных исследований. Конечно же, использование предлагаемых методологических подходов позволит ученым увеличить объективность, достоверность получаемых выводов и получать более согласующиеся результаты о влиянии тех или иных генетических маркеров на риск развития остеопороза.

Необходимо указать, что автором была поставлена и успешно выполнена задача, направленная на разработку метода определения риска развития постменопаузального остеопороза. Из всех исследованных факторов было отобрано четыре предиктора (в том числе два – иммунологических), использование которых наилучшим образом и с высокой степенью достоверности (78,4%) позволяет предсказывать развитие заболевания у женщин задолго до наступления менопаузы. Это, несомненно, важно для формирования групп риска и адресного выполнения профилактических мероприятий.

Автором диссертации получены и результаты, впервые свидетельствующие о влиянии отдельных генетических полиморфизмов на эффективность лечения остеопороза широко используемым препаратом «Бонвива». Установленные генетические предикторы ответа на терапию препаратом ибандроната открывают возможности для индивидуализированного подхода в определении вида и схемы антирезорбтивной терапии женщинам с постменопаузальным ОП.

### **Замечания**

Изложение диссертации в целом стилистически грамотное. Работа оформлена в соответствии с требованиями к диссертациям. Автореферат диссертации написан грамотно, логично, соответствует содержанию диссертации. Принципиальных замечаний по работе нет. В процессе рецензирования возникли следующие вопросы:

1. По данным анкеты у женщин выяснялся аллергологический анамнез. Изучалась ли связь между наличием у женщин аллергии и уровнями цитокинов (интерлейкин-4 и др.).

2. Как можно объяснить наличие положительных корреляционных связей уровня остеопротегерина с показателями остеокластогенных цитокинов (IL-6, IL-17A, TNF- $\alpha$  и RANKL) в группе женщин, имеющих остеопороз?

3. Каковы механизмы повышенной продукции интерлейкина-6 у женщин, имеющих генотип GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*?

## Заключение

Диссертационная работа Майлян Эдуарда Апетнаковича «Клинико-иммунологические и генетические аспекты постменопаузального остеопороза» является самостоятельным завершенным научно-квалификационным исследованием, в котором получены новые, ранее неизвестные, научно обоснованные результаты. Проведенное исследование является новым научным направлением, обеспечивающим весомый вклад в решение актуальной проблемы постменопаузального остеопороза. Анализ работы позволяет утверждать, что по актуальности, научной новизне, методическому обеспечению, практической значимости исследование на тему «Клинико-иммунологические и генетические аспекты постменопаузального остеопороза» соответствует требованиям п.2.1 Положения о присуждении ученых степеней, предъявляемым к докторским диссертациям, утвержденного Постановлением Совета Министров Донецкой Народной Республики от 27.02.2015 г. № 2-13, а ее автор Майлян Эдуард Апетнакович заслуживает присуждения ему ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент

Доктор медицинских наук (специальность 14.00.36 – аллергология и иммунология), профессор, заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова»; 360004, Российская Федерация, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; Тел.: 7(8662)422560; E-mail: yka@kbsu.ru

  
(подпись)

Хараева Заира Феликсовна

Согласие Хараевой Заиры Феликсовны на автоматизированную обработку персональных данных получено.

Подпись Хараевой Заиры Феликсовны заверяю:

«10» 04 2019 г.

МП

