

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор ФГУП «Гос.НИИ особо
чистых биопрепаратов» ФМБА России
д.м.н., профессор**



А.С. Симбирцев

2015 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Альшевской Алина Анатольевны «Экспрессия мембраносвязанных рецепторов к фактору некроза опухоли альфа и интерлейкину 1 бета на иммунокомпетентных клетках больных ревматоидным артритом», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы исследования.

Ревматоидный артрит — широко распространенное аутоиммунное заболевание, характеризующееся симметричным эрозивным синовитом, деструкцией хрящевой и костной тканей, а также нередко развитием широкого спектра системных проявлений. В большинстве случаев заболевание имеет хроническое течение, ведущее (при отсутствии своевременной адекватной терапии) к прогрессирующим деструкции, деформации и нарушению функции суставов, существенному снижению качества жизни, инвалидизации и преждевременной смерти.

Среди факторов, определяющих развитие и протекание воспалительных процессов при ревматоидном артрите, как аутоиммунном заболевании, характеризующемся значительными нарушениями в функционировании иммунной системы и активным участием клеток иммунной системы, особое место занимают провоспалительные цитокины. Важнейшими регуляторами

среди системы этих медиаторов являются фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкин-1 бета (IL-1 β). Эти два плеiotропных цитокина, как молекулы, обеспечивающие межклеточное взаимодействие, имеют при ревматоидном артрите широкий спектр действия и за счет различных прямых и опосредованных механизмов оказывают повреждающее воздействие на местном уровне, а также системно стимулируют и поддерживают воспалительный процесс.

В частности, TNF α и IL-1 β оказывают прямое цитотоксическое действие в поврежденных суставах, участвуют в стимуляции резорбции хрящевой ткани и регуляции остеокластогенеза и остеолизиса, стимулируют синтез широкого спектра других провоспалительных субстанций и регулируют функции иммунокомпетентных клеток, вовлеченных в патологический процесс.

Однако, биологические эффекты, оказываемые TNF α и IL-1 β на клетки, зависят от многих параметров – концентрации цитокина в межклеточном пространстве, от типа клеток, на которых экспрессируются их рецепторы, а также от количества рецепторов на клетке. К настоящему моменту основное внимание, как в фундаментальной, так и клинической иммунологии уделяется самим цитокинам и типу клеток, экспрессирующих рецептор. Несмотря на общее понимание взаимосвязи рецептор-медиатор, многие закономерности в этой системе остаются неизвестными. В частности, для ряда цитокинов показана возможность модуляции действия медиатора (по интенсивности воздействия; по механизму передачи сигнала – прямая или обратная сигнализация; по типу реагирования – с запуском разных сигнальных путей) за счет изменения числа рецепторов на поверхности клеток разных субпопуляций. О важности изучения количества экспрессируемых рецепторов на клетке говорят данные о том, что для некоторых цитокинов показаны различия в функциональной активности клеток с разным уровнем экспрессии мембраносвязанных рецепторов. Также в научной литературе представлены данные, показывающие изменения экспрессии рецепторов к цитокинам при патологических состояниях, что свидетельствует о важности учета данных

факторов в оценке течения и прогнозирования иммунопатологических процессов.

Диссертационное исследование А.А. Альшевской посвящено изучению экспрессии мембраносвязанных рецепторов к провоспалительным цитокинам TNF α и IL-1 β у больных ревматоидным артритом. Научная задача по изучению количества рецепторов к иммунорегуляторным цитокинам на различных типах вовлеченных в патологический процесс клеток, сформулированная в диссертации А.А. Альшевской, **безусловно актуальна и имеет важное фундаментальной и практическое значение.**

Ее решение позволит выявить не установленные ранее отличия в уровнях экспрессии мембраносвязанных TNF α и IL-1 β иммунокомпетентными клетками и связать эти отличия с маркерами клинической активности заболевания. Данная работа представляет собой новый вклад в понимание основ патогенеза иммуноопосредованных заболеваний, в частности ревматоидного артрита, так как изменение количества экспрессируемых специфических рецепторов на субпопуляциях клеток может быть играть существенную роль в патогенезе заболевания, а количественная характеристика специфических рецепторов на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток может быть также эффективна в качестве прогностического и диагностического критерия в развитии иммунопатологического состояния.

Новизна исследования, полученных основных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, степень достоверности полученных результатов

Научная новизна проведенного исследования не вызывает сомнений. Автором получены новые данные по количественным характеристикам экспрессии мембраносвязанных рецепторов к провоспалительным цитокинам TNF α и IL-1 β при ревматоидном артрите. Используемая методика оценки экспрессии рецепторов на поверхности клеток с помощью проточной

цитометрии и калибровочных частиц для перевода относительных показателей интенсивности флюоресценции в количество мембраносвязанных рецепторов позволила провести у больных ревматоидным артритом комплексную оценку показателей экспрессии рецепторов TNF α 1 и 2 типов и к IL-1 β 1 и 2 типов на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах и моноцитах не только по проценту клеток, экспрессирующих рецепторы, но и по числу рецепторов на них.

Все полученные данные сопоставлены с полученными автором результатами по содержанию растворимых медиаторов и рецепторов в сыворотке, а также с литературными данными. Установлены варианты одновременного разнонаправленного изменения количества рецепторов и процента клеток, экспрессирующих рецепторы, что ранее не было показано в исследованиях экспрессии рецепторов при ревматоидном артрите. Впервые продемонстрировано, что изменение количества экспрессируемых рецепторов на клетках взаимосвязано с уровнем активности ревматоидного артрита.

Объем выполненных исследований достаточен для получения достоверных результатов. Современные методы исследования, использования адекватных статистических методов обработки данных, соответствие дизайна и логики исследования поставленной цели и задачам определяют высокую степень достоверности положений, заключений и выводов диссертационной работы. Сформулированные выводы и положения аргументированы и логически вытекают из анализа результатов выполненного научного исследования. Все изложенные в работе результаты отражены в публикациях автора.

Научная и практическая значимость полученных результатов исследования

Научная значимость исследования, выполненного А.А. Альшевской, состоит в получении новых знаний о фундаментальных основах функционирования иммунной системы на уровне взаимодействия цитокинов и мембраносвязанных рецепторов к ним в условиях протекания хронического

аутоиммунного воспалительного процесса у больных ревматоидным артритом. Полученные данные демонстрируют необходимость исследования числа рецепторов на клетках при изучении экспрессии мембраносвязанных рецепторов в связи с выявленными ассоциациями данных параметров с показателями активности заболевания, а также в связи с установленным фактом того, что высокая экспрессия рецептора определенного типа в субпопуляции может не коррелировать с повышенным числом рецепторов на клетках, и наоборот.

Полученные данные свидетельствуют о том, что изменение количества мембраносвязанных рецепторов связано с патологическим процессом и ассоциировано с клиническими параметрами активности заболевания. Эти результаты расширяют представления о вовлеченности мембраносвязанных рецепторов в патогенетические процессы при ревматоидном артрите и дают возможность рассматривать изменение числа рецепторов на клетках как потенциальную мишень для диагностики, прогнозирования течения заболевания и разработки таргетной терапии.

Результаты проведенного исследования используются в учебном процессе при подготовке лекционного материала и проведения научных семинаров для аспирантов и клинических ординаторов, проходящих обучение в НИИФКИ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные в диссертационном исследовании результаты представляют интерес для научно-исследовательских и лечебно-диагностических учреждений иммунологического и ревматологического профиля. Выявлены изменения в экспрессии мембраносвязанных рецепторов к TNF α и к IL-1 β на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах и моноцитах, активно вовлеченных в патогенез ревматоидного артрита, и установлены связи с показателями активности заболевания.

Полученные результаты указывают на то, что изменение уровня экспрессии рецепторов на клетке может рассматриваться как один из перспективных подходов для таргетной цитокиновой и антицитокиновой терапии. Результаты работы могут быть использованы в образовательном процессе студентов медицинских учреждений, при подготовке клинических ординаторов и аспирантов.

Общая характеристика работы

Диссертационное исследование А.А.Альшевой оформлено по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, разделов, касающихся использованных при выполнении работы материалов и методов, собственных экспериментальных результатов исследования, их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Материал изложен на 132 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка и 4 таблицы. Прилагаемый библиографический список содержит ссылки на 251 литературный источник, в том числе 233 иностранный.

Цель и задачи исследования сформулированы четко, в тексте изложены положения диссертации, выносимые на защиту, научная новизна работы, практическая значимость, апробация результатов работы. Работу завершают четко сформулированные выводы, которые полностью отвечают цели и задачам проведенного исследования. Основное содержание работы четко отражено в автореферате, который соответствует основным идеям и выводам диссертации.

Результаты диссертационного исследования представлены и обсуждены на научных конференциях, семинарах и форумах, в том числе международных, и опубликованы в 15 печатных работах, из которых 5 – статьи в журналах, рекомендованных ВАК для освещения результатов кандидатских диссертаций.

Принципиальных замечаний по работе нет. К автору имеется вопрос, не носящий принципиального характера и не влияющий на положительную оценку работы в целом, а именно:

- для каждой из исследуемых субпопуляций продемонстрированы

изменения в показателях экспрессии рецепторов разных типов для цитокинов TNF α и IL-1 β . Однако, значительный интерес также представляют данные по одновременной экспрессии рецепторов разных типов на одних и тех же клетках. Почему не был выполнен такой анализ, и какие результаты, по вашему мнению, вы могли бы в нем получить?

Заключение

Диссертационная работа Алины Анатольевны Альшевской «Экспрессия мембраносвязанных рецепторов к фактору некроза опухоли альфа и интерлейкину 1 бета на иммунокомпетентных клетках больных ревматоидным артритом», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой. В работе на основании полученных автором данных осуществлено решение актуальной задачи – изучена экспрессия мембраносвязанных рецепторов к провоспалительным цитокинам TNF α и IL-1 β у больных ревматоидным артритом по показателям процентного содержания иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих рецепторы, и по количеству рецепторов разных типов на поверхности клеток. Выявленные особенности экспрессии мембраносвязанных рецепторов у больных ревматоидным артритом, а также продемонстрированные ассоциации показателей, характеризующих количество рецепторов на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах и моноцитах, с активностью заболевания, свидетельствуют о важной роли мембраносвязанных рецепторов к TNF α и IL-1 β при данной нозологии.

Таким образом, по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной и практической значимости полученных результатов работа А.А. Альшевской полностью отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает

присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании секции № 1 Ученого Совета Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России), протокол № 6 от 09.11.2015 г.

Заместитель директора ФГУП
«Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России по
научной работе член-корреспондент
РАМН, профессор

С.А.Кетлинский

Ученый секретарь, к.х.н.

М.П.Смирнова

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства.

Адрес : 197110, г.Санкт-Петербург, ул. Пудожская д. 7

Тел. 8(812)2351225

E-mail: secretary@hpb-spb.com

