

## Отзыв

официального оппонента доктора медицинских наук Топтыгиной Анны Павловны на диссертационную работу Шевырева Даниила Вадимовича «Влияние гуморальных факторов гомеостатической пролиферации на Т-регуляторные клетки в норме и при ревматоидном артрите *in vitro*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

### Актуальность избранной темы

В XX в фармацевтическая отрасль переживала бурный рост, были созданы новые классы препаратов, например антибиотики, которые коренным образом изменили терапевтические подходы и прогнозы для многих тяжелых заболеваний. Казалось, еще немного, и мы справимся и с инфекционными, и с многими другими болезнями, однако оказалось, что микроорганизмы вырабатывают устойчивость к препаратам, а новых антибиотиков создается не так много. Одним из перспективных направлений на современном этапе является разработка препаратов, способных оказывать регуляторное воздействие на собственную иммунную систему. Действительно, при некоторых заболеваниях, особенно хронических инфекциях и опухолях, необходимо стимулировать иммунитет, а при других, как показало тяжелое течение Covid-19, или при аутоиммунной патологии, например при ревматоидном артрите (РА), необходимо наоборот притормозить слишком активный иммунный ответ. Регуляцией иммунного ответа занимаются специальные субпопуляции Т-лимфоцитов, называемые Т-регуляторные клетки (Treg). Такая регуляция вовлекает разные механизмы. Это может быть контактное взаимодействие, для чего существуют специальные ко-стимулирующие и ко-ингибирующие молекулы, это может быть цитокиновая регуляция, и для этого есть специальные цитокины, возможно использование цитотоксических механизмов и за счет взаимодействия Fas-FasL, и за счет вовлечения цитотоксических гранул.

Популяция Treg состоит, по крайней мере, из 2-х субпопуляций: натуральных Treg, образующихся в тимусе и занимающихся контролем аутореактивности, и индуцированных Treg, образующихся на периферии из CD4<sup>+</sup> лимфоцитов и занимающихся контролем толерантности к антигенам пищи и плода при беременности, а также эти клетки ограничивают иммунные ответы, протекающие в организме. Обе субпопуляции экспрессируют FoxP3, но различаются по спектру и интенсивности экспрессии других молекул.

Многие заболевания и неблагоприятные факторы окружающей среды приводят к более или менее выраженной лимфопении из-за потери или гибели лимфоцитов. В организме существуют специальные механизмы восполнения таких потерь, однако такой механизм, как гомеостатическая пролиферация, сопряжен и с определенными рисками. В связи с вышеизложенным, диссертационная работа, направленная на изучение гомеостаза и регуляции функциональной активности Treg в норме и при аутоиммунной патологии, несомненно, является весьма актуальным и своевременным исследованием.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Научная новизна диссертационной работы Шевырева Д.В. заключается в первую очередь в изучении влияния гомеостатических цитокинов IL-7 и IL-15 на экспрессию регуляторных молекул и супрессорную активность Treg. Впервые установлено, что IL-7 и IL-15 повышают плотность экспрессии PD-1L на Treg здоровых и больных РА. Автором показано, что Treg подавляют пролиферацию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> -клеток, вызванную IL-7 и IL-15, и супрессорная активность Treg снижается при условии одновременного с цитокинами воздействия анти-CD3-антителами.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых знаний о механизмах регуляторных воздействий Treg на пролиферацию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, вызванную гомеостатическими цитокинами IL-7

и IL-15. Тот факт, что одновременная стимуляция IL-7 и IL-15 и анти-CD3-антителами снижает супрессорную активность Treg, объясняет, почему Treg не блокируют гомеостатическую пролиферацию лимфоцитов в случае лимфопении, тогда как присутствие IL-2 сохраняет супрессорную активность Treg, что позволяет им выполнять свои надзорные функции.

Кроме того, диссертация имеет важное практическое значение. Так были выявлены различия в экспрессии иммунорегуляторных рецепторов Treg у больных РА по сравнению со здоровой группой. В то же время, не было выявлено нарушений в активности Treg у больных по сравнению со здоровыми. Предложено использовать маркер ROR $\gamma$ t как дополнительный параметр при оценке активности РА.

#### **Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов**

Достоверность результатов, обоснованность научных положений и выводов не вызывает сомнений. Это обеспечено использованием адекватных методов, достаточным количеством исследованных пациентов и здоровых доноров. Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с использованием культуральных, иммунофлюоресцентных, иммуноферментных методов исследования на сертифицированном оборудовании. Для статистической обработки полученных данных были использованы общепринятые методы статистики, позволяющие оценить достоверность выявленных изменений.

Основные положения и выводы, сформулированные автором, являются логически обоснованными, полученные данные сопоставлены с результатами других исследователей.

Результаты диссертационной работы Шевырева Д.В. полно представлены в 10 печатных работах, в том числе 3 из них в периодических рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для опубликования

основных научных результатов диссертационных работ и 2 статьи в журналах, индексируемых в базах Scopus и Web of Science.

Автореферат полно отражает содержание диссертации. В нем изложены цель, задачи и актуальность исследования, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна и научно-практическая значимость работы, изложены наиболее значимые результаты работы и выводы.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа Шевырева Д.В. построена по общепринятому плану и содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, полученных результатов, их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 127 страницах и проиллюстрирована 36 рисунками. Список литературы включает 274 источника.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, излагает цель и задачи, описывает новизну и практическую значимость работы, представляет положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы описаны иммунологические механизмы и роль регуляторных Т-клеток в патогенезе ревматоидного артрита, особенности гомеостаза Т-клеток и роль гомеостатической пролиферации в патогенезе аутоиммунных заболеваний, субпопуляционный состав, функции и гомеостаз регуляторных Т-клеток. К сожалению, в обзоре представлены только англоязычные авторы, хотя среди отечественных работ достаточное количество посвящено исследованию Treg.

В главе «материалы и методы» представлена методическая часть работы: описаны исследованные группы пациентов, критерии включения/исключения, представлена схема экспериментов. Описаны использованные методы: культуральные, иммунофлюоресцентные, иммуноферментные и методы статистического анализа.

В главе «результаты собственных исследований» представлены 3 группы

