

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Талаева Владимира Юрьевича на диссертацию Фалалеевой Светланы Алексеевны «Фенотипическая и функциональная характеристика миелоидных и плазмоцитоидных дендритных клеток больных ревматоидным артритом», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Диссертационная работа Фалалеевой С.А. посвящена актуальной проблеме изучения субпопуляционного состава, фенотипических и функциональных свойств дендритных клеток при ревматоидном артрите. Как известно, дендритные клетки являются гетерогенной популяцией клеток, объединенных происхождением и функциональными свойствами, в первую очередь, выраженной способностью к презентации антигенов Т-лимфоцитам. В зависимости от функционального состояния дендритных клеток результатом презентации антигена может являться пролиферация и созревание Т-клеток эффекторов иммунного ответа, или стимуляция регуляторных Т-клеток и индукция иммунологической толерантности. Дендритные клетки разделяются на 2 основные группы: классические или миелоидные дендритные клетки и плазмоцитоидные дендритные клетки. Клетки этих групп отличаются как фенотипически, так и функционально. Ранее было показано, что дендритные клетки активно участвуют в процессе аутоиммунного воспаления, в частности, при ревматоидном артрите, причем имеются данные, подтверждающие участие в аутоиммунной реакции обеих типов дендритных клеток. Однако вклад миелоидных и плазмоцитоидных дендритных клеток в воспалительные процессы у больных ревматоидным артритом до сих пор изучен недостаточно. В свете этого несомненный интерес представляет исследование дендритных клеток при ревматоидном артрите, изложенное в диссертационной работе Фалалеевой С.А.

Диссертационная работа написана в традиционном стиле, изложена на 112 страницах и состоит из следующих разделов: обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение и выводы. Диссертация содержит 16 рисунков. Библиографический список сформирован из 144 литературных источников, из них 7 на русском языке.

Автором сформулирована **цель исследования** – изучить содержание и функциональные свойства субпопуляций дендритных клеток и эффективность их индукции из клеток - предшественников периферической крови у больных ревматоидным артритом. Поставленные задачи полностью соответствуют цели и согласуются с содержанием работы.

Научная новизна диссертационного исследования не вызывает сомнения. В работе впервые показано, что в периферической крови у больных ревматоидным артритом наблюдается изменение соотношения между популяциями дендритных клеток, за счет уменьшения относительного количества плазмоцитоидных дендритных клеток. Как миелоидные, так и плазмоцитоидные дендритные клетки крови больных ревматоидным артритом отличаются чрезвычайно необычным фенотипом. Выделенные из крови миелоидные дендритные клетки практически лишены молекул CD80 и CD83, и по этим параметрам демонстрируют менее зрелый фенотип, чем дендритные клетки здоровых доноров. В то же время, они обладают выраженной экспрессией хемокинового рецептора CCR7. Этот рецептор характерен для зрелых миелоидных дендритных клеток и отвечает за их миграцию в Т-клеточные зоны лимфоидных органов. Плазмоцитоидные дендритные клетки больных также лишены CD80 и CD83 и обладают повышенной экспрессией CCR7. Отсутствие маркеров CD80 и CD83 не связано с блокадой созревания, характерной для толерогенных дендритных клеток, поскольку после стимуляции *in vitro* экспрессия этих молекул возрастает до уровня, характерного для клеток здоровых доноров.

Установлено, что у больных ревматоидным артритом в обеих популяциях дендритных клеток снижено количество продуцентов противовоспалительных цитокинов, и увеличено количество плазмоцитоидных дендритных клеток продуцирующих интерлейкин-12 и интерферон- α . С использованием краткосрочного культивирования прилипающей фракции моноклеарных клеток в присутствии стимуляторов созревания не выявлено нарушений фенотипического и функционального созревания дендритных клеток из циркулирующих предшественников у больных ревматоидным артритом.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении знаний о клеточных механизмах аутоиммунного процесса при ревматоидном артрите и характеристике процесса созревания и функциональной активности дендритных клеток при этой патологии. Результаты свидетельствуют о вовлечении дендритных клеток в патологическую реакцию и могут быть использованы при разработке таргетной терапии больных ревматоидным артритом, что демонстрирует **практическую значимость** работы.

В первой главе диссертации, обзоре литературы, автор рассматривает патогенетические изменения иммунной системы при ревматоидном артрите, уделяя основное внимание изменениям функционирования дендритных клеток. Отдельно автор анализирует возможности применения дендритных клеток в терапии аутоиммунных заболеваний.

Вторая глава, описывает объект и дизайн исследования, содержит подробное описание используемых методов. Для выполнения поставленных задач автор использовал метод проточной цитометрии. Фенотипические и функциональные свойства миелоидных и плазмоцитоидных дендритных клеток оценивались как непосредственно после выделения из организма, так и в культуре клеток.

В третьей главе диссертации изложены результаты собственных исследований. Приводятся данные, полученные при последовательном решении поставленных задач исследования.

В результате выполненных исследований дана фенотипическая и функциональная характеристика дендритных клеток больных ревматоидным артритом выделенных из периферической крови и полученных *in vitro*. При патологии обнаружены значительные изменения содержания групп дендритных клеток в крови и специфические, ярко выраженные особенности их фенотипа. С использованием стимуляции *ex vivo* показана способность клеток больных к дифференцировке в зрелые дендритные клетки. Несмотря на то, что количество плазмоцитоидных дендритных клеток периферической крови у больных ревматоидным артритом существенно понижено, эти клетки демонстрируют высокий миграционный потенциал, выраженный в повышенной экспрессии хемокинового рецептора CCR7. Показано, что у больных ревматоидным артритом как миелоидные, так и плазмоцитоидные дендритные клетки обладают ослабленным синтезом противовоспалительных интерлейкина-4 и интерлейкина-10. В то же время, плазмоцитоидные дендритные клетки больных обладают повышенным синтезом провоспалительных интерлейкина-12 и интерферона- α , что создает условия для активного участия этих клеток в аутоиммунном воспалении. Эксперименты по генерации дендритных клеток с миелоидным и плазмоцитоидным фенотипом в краткосрочных 1 – 3 суточных культурах не выявили нарушений ранних событий созревания дендритных клеток из циркулирующих предшественников у больных ревматоидным артритом.

В четвертой главе – «Обсуждение полученных результатов» - диссертант приводит возможные гипотезы, связывающие полученные результаты с известными современными научными данными, обосновывает сформулированные выводы.

В целом диссертация производит впечатление продуманного исследования. Использованные методы адекватны поставленным задачам. Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Диссертация написана хорошим научным языком. Выявленные грамматические и стилистические ошибки не влияют на научную ценность работы и доведены до сведения диссертанта. Список литературы содержит достаточное количество современных отечественных и зарубежных источников. Результаты исследования доложены и обсуждены на ряде научных конференций и семинаров, список публикаций автора по теме диссертации составляет 10 наименований, в том числе две статьи в отечественных журналах, входящих в перечень рекомендуемых ВАК.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и оформлен в соответствии с предъявляемыми к нему требованиями.

Заключение. Диссертационная работа Фалалеевой С.А. на тему «Фенотипическая и функциональная характеристика миелоидных и плазмоцитоидных дендритных клеток больных ревматоидным артритом» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Сенникова С.В., в которой содержится решение актуальной научной задачи функциональной и фенотипической характеристики дендритных клеток при аутоиммунной патологии, что имеет существенное значение для клинической иммунологии и аллергологии. Работа полностью соответствует требованиям п. 9, предъявляемым к кандидатским диссертациям (Положение о порядке присуждения ученых степеней, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент,
профессор,
доктор медицинских наук,
заведующий лабораторией
клеточной иммунологии ФБУН
«Нижегородский научно-
исследовательский институт
эпидемиологии и
микробиологии им. академика
И.Н. Блохиной» Федеральной
службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека

Талаев
Владимир Юрьевич

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук защищена по
специальности 14.00.36 – Аллергология и
иммунология

Подпись Талаева В.Ю. заверяю

Ученый секретарь,
кандидат медицинских наук



Евплова
Ирина Алексеевна

Реквизиты:

Почтовый адрес: 603950, г.Нижний Новгород, ул.Малая Ямская, д.71

Телефон: 8(831) 469-79-24

Факс: 8(831) 469-79-20

Электронный адрес: micro@sinn.ru