

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050

Телефон (3822) 53 04 23;

Факс (3822) 53 33 09

e-mail: office@ssmu.ru

http://www.ssmu.ru

ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251

ИНН 7018013613 КПП 701701001

Утверждаю

Ректор ФГБОУ ВО СибГМУ

Минздрава России

д-р мед. наук, профессор

О.С. Кобякова

2019 г.



№ \_\_\_\_\_  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации

Курочкиной Юлии Дмитриевны на тему «Эффект глюкокортикоидов на функции интерферон-альфа индуцированных дендритных клеток здоровых доноров и больных ревматоидным артритом», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

### Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Курочкиной Ю.Д. посвящена изучению влияния дексаметазона на интерферон (ИФН)-альфа-индуцированную дифференцировку моноцитов в дендритные клетки у здоровых доноров и больных ревматоидным артритом. Дендритные клетки (ДК) играют важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний, участвуя в презентации аутологичных пептидов. При этом ввиду способности ДК индуцировать не только иммунный ответ, но и развитие иммунологической толерантности, все большее внимание уделяется изучению и разработке различных подходов к генерации толерогенных дендритных клеток (тДК), а также возможности их клинического применения. Учитывая важную роль интерферонов типа I в развитии аутоиммунных заболеваний, в том числе ревматоидного артрита, представляется важным и своевременным изучение свойств ДК, генерируемых в присутствии ИФН-альфа,

а также глюкокортикоидов, применяющихся в лечении аутоиммунных заболеваний. В связи с этим, работа Курочкиной Ю.Д., несомненно, является актуальной как в фундаментальном, так и прикладном аспектах.

### **Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки**

Диссертационная работа Курочкиной Ю.Д. выполнена в соответствии с планом НИР федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ) на базе лаборатории клеточной иммунотерапии и отделения ревматологии Клиники иммунопатологии НИИ ФКИ. Работа соответствует приоритетному тематическому направлению развития науки Российской Федерации «Науки о жизни» (критические технологии «Технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний», «Клеточные технологии»). Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийском конгрессе с международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге 2016» (15-17 сентября 2016, г. Санкт-Петербург), IX отчетной научной сессии НИИФКИ «Фундаментальные и клинические аспекты иммунологии» (16-17 июня 2016, г. Новосибирск), Европейских конгрессах ревматологов EULAR 2017 (14-17 июня 2017 г., г. Мадрид, Испания) и EULAR 2018 (13-16 июня 2018 г., г. Амстердам, Нидерланды).

### **Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Большинство исследований в предметной области посвящены изучению свойств интерлейкин-4-индуцированных ДК (ИЛ4-ДК), в то время как соискателем в качестве объекта исследования выбраны дендритные клетки моноцитарного происхождения, модифицированные дексаметазоном. Кроме того, соискателем изучены свойства ДК, генерируемых в присутствии ИФН-



альфа (ИФН-ДК), в сравнении с характеристиками ИЛ4-ДК. Описаны эффекты тДК в отношении аутологичных Т-клеток у больных ревматоидным артритом. В частности доказано, что у здоровых доноров и больных ревматоидным артритом дексаметазон индуцирует толерогенные свойства ДК, генерируемых из моноцитов в присутствии ИНФ-альфа. При этом дексаметазон-модифицированные ИФН-ДК здоровых доноров отличаются от дексаметазон-модифицированных ИЛ4-ДК менее зрелым фенотипом, более выраженным ингибирующим эффектом на пролиферацию Т-клеток и подавляют продукцию Th1/провоспалительных цитокинов, не влияя на продукцию Th2-ассоциированных цитокинов. Выявлено, что дексаметазон-модифицированные ИФН-ДК больных ревматоидным артритом ингибируют пролиферацию аутологичных Т-клеток посредством индукции анергии, усиления апоптоза и генерации регуляторных  $CD4^+$  Т-клеток, секретирующих иммуносупрессорный цитокин интерлейкин (IL) 10 (Tr1). Полученные новые данные характеризуют новый тип ДК и обосновывают возможность их клинического применения.

### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Диссертационная работа Курочкиной Ю.Д. является пилотным исследованием, характеризующим свойства интерферон-альфа-индуцированных ДК, генерируемых в присутствии дексаметазона. Соискателем выявлены общие и дифференциальные свойства дексаметазон-модифицированных ИФН-ДК и ИЛ4-ДК. Установлена чувствительность ИФН-ДК больных ревматоидным артритом к толерогенному действию дексаметазона, показаны механизмы ингибирующего эффекта на функции аутологичных Т-лимфоцитов, что расширяет знания о свойствах дендритных клеток в общем и ИФН-ДК в частности.

Практическую ценность представляют результаты по изучению толерогенных свойств ДК, обосновывающих возможность использования ИФН-

ДК в качестве новой клеточной платформы для получения толерогенных ДК-вакцин. Кроме того, на основании выявленного влияния пульс-терапии на свойства ДК установлены оптимальные сроки для генерации дендритных клеток у больных ревматоидным артритом.

Диссертационная работа Курочкиной Ю.Д. представляет собой завершенное исследование, достоверность результатов которого не вызывает сомнений. Работа выполнена на достаточном материале (образцы крови от 119 человек). Работа включает исследования, выполненные с привлечением современных иммунологических методов и адекватных методов статистической обработки данных. Выводы диссертационной работы корректны и полностью отражают полученные результаты. Автор лично участвовал в разработке дизайна исследования, рекрутировании пациентов и проведении иммунологических исследований. Обработка полученных данных и статистический анализ проведены соискателем самостоятельно.

Результаты работы апробированы и представлены в виде докладов на российских и зарубежных (Испания, Нидерланды) научно-практических мероприятиях. По материалам диссертационной работы опубликовано 13 печатных работ, включая 4 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также индексируемых в базах Scopus и Web of Science.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Научные положения и выводы диссертационной работы Курочкиной Ю.Д. представляют интерес для широкого круга специалистов в области иммунологии и аллергологии, ревматологии, клеточной биологии, патофизиологии и др. Материалы диссертации могут использоваться в программах обучения студентов медицинским и естественным наукам, подготовке врачей-ординаторов, а также представлять интерес для научных организаций, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями в области иммунологии,



клеточной биологии и клеточной терапии, ревматологии. Продemonстрированная Курочкиной Ю.Д. чувствительность ИФН-ДК больных ревматоидным артритом к толерогенному действию дексаметазона в совокупности с данными о стабильности ИФН-ДК, генерированных в его присутствии, свидетельствует о возможности генерации толерогенных ИФН-ДК у больных с данной патологией. Способность ИФН-ДК, генерированных в присутствии дексаметазона, у больных ревматоидным артритом ингибировать пролиферативный ответ в аллогенной смешанной культуре лейкоцитов при генерации ДК после пульс-терапии метилпреднизолоном позволяет рассматривать данный период в качестве оптимального «терапевтического окна» для получения тДК.

Диссертационная работа Курочкиной Ю.Д. имеет классическую структуру, и состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), описания материала и методов исследований (Глава 2), результатов собственных исследований (Глава 3) и их обсуждения (глава 4), заключения, выводов, списков сокращений и цитируемой литературы (215 литературных источников). Текст изложен на 146 страницах машинописного текста, включает 19 таблиц и 15 рисунков.

Во введении соискатель обосновывает целесообразность проведения диссертационной работы, формулирует ее цель и задачи. В обзоре литературы автором приведены данные о различных типах ДК, существующих подходах к их генерации, а также результатах клинических испытаний с использованием дендритно-клеточных вакцин. Кроме того, автор достаточно широко осветил проблему ревматоидного артрита, существующие подходы к его лечению, обосновал необходимость поиска дополнительных методов терапии. Обзор свидетельствует о квалифицированном владении автором современной литературой и уверенной ориентации в выбранной области исследования. Глава 2 содержит детальное описание объекта исследований и методов, используемых для решения поставленных задач. Обращают внимание сложность и современный уровень подходов, использованных в работе. Глава 3 содержит описание результатов собственных исследований и включает 5 разделов. В первом разделе показано, что у здоровых доноров при действии дексаметазона



ИФН-ДК приобретают не только фенотипические, но и функциональные свойства тДК. Во втором разделе автором проанализированы общие и отличительные свойства ИФН-ДК и ИЛ4-ДК. На основании полученных данных автор делает вывод о более выраженных толерогенных свойствах ИФН-ДК и обосновывает актуальность их дальнейшего изучения. В третьем разделе автор излагает, что у больных ревматоидным артритом интерферон-альфа-индуцированные ДК чувствительны к толерогенному эффекту дексаметазона и при его *in vitro* действии приобретают признаки толерогенных клеток. Раздел 4 посвящен изучению влияния дексаметазон-модифицированных ДК на функции аутологичных Т-лимфоцитов больных ревматоидным артритом. Автором последовательно описаны механизмы их ингибирующего действия на Т-клетки. Продemonстрирована способность ИФН-ДК, модифицированных дексаметазоном, индуцировать апоптоз и гипореактивность Т-лимфоцитов, активировать Т-регуляторные клетки. Показано супрессорное действие дексаметазон-модифицированных ДК больных ревматоидным артритом на пролиферацию аутологичных Т-клеток, стимулированных контрольными ДК. В разделе 5 автором приведены результаты изучения влияния пульс-терапии высокими дозами глюкокортикоидов на функции ДК *in vivo*, а также на субпопуляционный состав моноцитов. Продemonстрирована реализация толерогенного эффекта глюкокортикоидов в отношении ИФН-ДК *in vivo*, и показана взаимосвязь между содержанием CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> моноцитов и влиянием глюкокортикоидов на интерферон-альфа-индуцированные дендритные клетки *in vivo* и *in vitro*. В главе 4 приводится развернутое обсуждение полученных результатов с привлечением сведений литературы. Диссертация завершается обобщающим заключением, что существенно облегчает анализ представленной информации.

Результаты собственных исследований изложены понятно, последовательно и аргументировано. Выводы соответствуют поставленным цели и задачам и полностью отражают результаты выполненного исследования.

Автореферат включает основные положения, выносимые на защиту, и полностью соответствует содержанию основных разделов диссертации. Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Принципиальных замечаний, снижающих ценность представленного диссертационного исследования, нет. Единственное, что хотелось бы заметить – это большое количество сокращений в целом в тексте диссертации и ключевых ее разделах – введении, включая задачи и выносимые на защиту положения, а также выводах, что затрудняет восприятие и анализ информации.

В ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы уточняющего характера:

1. Почему в качестве объекта исследования были выбраны больные ревматоидным артритом, а не с другой аутоиммунной патологией?
2. Могли ли болезнь-модифицирующие лекарственные средства, применяемые в терапии больных ревматоидным артритом, влиять на свойства мононуклеарных лейкоцитов и генерируемых из них дендритных клеток? И могли ли (при положительном ответе на первую часть вопроса) эти эффекты различаться, учитывая, что у одних больных лечение проводилось в режиме монотерапии, а у других было комбинированным?

### **Заключение**

Таким образом, диссертация Курочкиной Юлии Дмитриевны «Эффект глюкокортикоидов на функции интерферон-альфа индуцированных дендритных клеток здоровых доноров и больных ревматоидным артритом» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по выявлению влияния дексаметазона на интерферон-альфа-индуцированную дифференцировку моноцитов в дендритные клетки и характеристике свойств



модифицированных глюкокортикоидами дендритных клеток у здоровых доноров и больных ревматоидным артритом, имеющей значение для развития клинической иммунологии и аллергологии и медицинской науки в целом.

Диссертационная работа Курочкиной Юлии Дмитриевны отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 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 одобрен на заседании кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России 02 июля 2019 г., протокол №36.

Заведующий кафедрой патофизиологии  
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН



Уразова Ольга Ивановна

02 июля 2019 г.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук (14.03.03 – патологическая физиология; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология), профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России); 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2, urazova72@yandex.ru, телефоны: +7(3822)901101, доп. 1742 (раб.), +7(903)9131483 (моб.).

