

О Т З Ы В

официального оппонента доктора медицинских наук Трунова Александра Николаевича на диссертационную работу Курочкиной Юлии Дмитриевны «Эффект глюкокортикоидов на функции интерферон-альфа индуцированных дендритных клеток здоровых доноров и больных ревматоидным артритом», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы диссертационного исследования.

Актуальность представленной диссертационной работы не вызывает сомнения и обусловлена рядом положений.

Во-первых, несмотря на все достижения современной медицины, ревматоидный артрит остается одним из патологических процессов, характерными чертами которого являются достаточно высокая распространенность, тенденция к увеличению заболеваемости, определенные трудности в лечении. Указанное, в совокупности, определяет ревматоидный артрит как заболевание, приводящее к высокому уровню медико-социальных и экономических потерь для общества.

Во-вторых, известно, что результаты использования существующих методов лечения ревматоидного артрита не всегда являются патогенетически обоснованными и удовлетворяют врачей практического здравоохранения, а усилия ученых многих стран направлены на разработку новых высокотехнологичных комплексных подходов к лечению этого грозного заболевания.

Во-третьих, не вызывает сомнения значимая роль дендритных клеток, обусловленная их способностью индуцировать иммунологическую толерантность, в механизмах развития ревматоидного артрита. Благодаря этой способности в настоящее время использование толерогенных дендритных клеток при аутоиммунных заболеваниях, включая ревматоидный артрит, рассматри-

вается рядом исследователей как патогенетический обоснованный метод клеточной терапии.

В тоже время, многие аспекты влияния глюкокортикоидов, применяемых при лечении ревматоидного артрита, на свойства дендритных клеток, генерируемых в присутствии интерферона-альфа, с учетом роли интерферонов I типа в реализации аутоиммунного воспаления, остаются малоизученными, что определяет теоретическую и практическую значимость представленной диссертационной работы.

Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что цель и задачи представленной диссертационной работы Курочкиной Ю.Д. являются актуальными и значимыми для науки и практического здравоохранения.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования

В проведенном исследовании автором получены данные, определяющие научную новизну и практическую значимость диссертационной работы.

Автором изучены свойства ИФН-дендритных клеток (ДК) доноров, генерируемых в присутствии дексаметазона, и показано, что они характеризуются более низким относительным количеством CD83+ и CD86+ ДК и повышенным содержанием CD14+, TLR2+ и PD-L1+ ДК, а также способностью ингибировать пролиферацию Т-клеток и продукцию цитокинов в алло-СКЛ. Полученные данные позволяют автору сделать заключение о том, что под воздействием глюкокортикоидов изучаемые дендритные клетки приобретают толерогенные свойства.

Автором диссертационного исследования впервые произведена сравнительная оценка свойств ИФН-ДК и ИЛ4-ДК модифицированных дексаметазоном и показано, что ИФН-ДК доноров характеризуются более высоким содержанием CD14+ и TLR2+ ДК, более выраженно ингибируют пролиферацию Т-клеток и продукцию Th1/провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-2, ИНФ- γ) на фоне менее выраженного супрессорного воздействия

на продукцию на Th2 цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-13), что свидетельствует о более выраженных толерогенных свойствах дексаметазон-модифицированных ИФН-ДК.

Автором показана возможность генерации ИФН-ДК больных ревматоидным артритом и впервые продемонстрирован эффект ингибирующего влияния на пролиферацию Т-клеток в аутологичной смешанной культуре лейкоцитов, что позволяет сделать автору сделать заключение о перспективности использования ИФН-ДК.

Материалы диссертации могут быть рекомендованы к внедрению в научно-педагогический процесс кафедр иммунологии, патологической физиологии (раздел аутоиммунное воспаление) профильных ВУЗов, а также в программы послевузовского образования. Полученные результаты являются научным обоснованием для разработки, апробации и внедрения методов клеточной иммунотерапии с использованием дендритных клеток в комплексном лечении ревматоидного артрита.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов и выводов

Достоверность результатов работы, научные положения и выводы диссертации основаны на достаточном для решения поставленных задач количестве доноров (65 человек) и лиц с верифицированным диагнозом ревматоидный артрит (54 пациента), логичности построения и тщательной проработке всех этапов исследования, использовании высокоинформативных методов лабораторного тестирования, тщательном анализе и сопоставлении полученных данных, корректной статистической обработке.

Полученные материалы были обсуждены на международных и российских научных форумах и представлены в печатных работах (13 печатных работ по теме диссертации, в том числе, в достаточном количестве в периодических изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего

образования РФ для публикации материалов, используемых в диссертационных работах на соискание ученой степени кандидата/доктора наук).

Материал, представленный в диссертации, получен и проанализирован автором лично.

Все вышеизложенное позволяет считать, что представленные автором, данные достоверны, а выводы обоснованы и соответствуют полученным данным.

Представленная диссертация написана в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 5 глав собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов.

Рукопись изложена на 146 страницах печатного текста, включает 19 таблиц и 15 рисунков. Список литературы включает 215 источников.

Введение отвечает предъявляемым требованиям, содержит все необходимые разделы: кратко обоснована актуальность и аргументирован выбор темы, сформулированы цель и задачи исследования, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы изложен достаточно полно и охватывает современные аспекты изучаемой проблемы. В нем представлены точки зрения и суждения различных авторов, грамотно используется современная литература, что свидетельствует об эрудиции автора и его способности к аналитической работе. Автором изложены современные взгляды на патогенез и лечение ревматоидного артрита, данные научной литературы о свойствах дендритных клеток при изучаемом патологическом процессе, современные подходы к генерации дендритных клеток в норме и при аутоиммунной патологии, а также результаты существующих клинических испытаний ДК-вакцин. Знание литературы позволило автору корректно сформулировать цель и задачи собственного диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» автор описывает группы обследуемых лиц, а также представляет методы исследования (культуральные и иммунологические методы тестирования, протокол генерации ДК *in vitro*). Выбор методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования.

Определив цель диссертационного исследования, в главах результатов собственных исследований автор последовательно описывает полученные в процессе работы данные, проводит их сравнительный анализ и сопоставления, делает обоснованные заключения.

В разделе 3.1 автор описывает свойства ИФН-ДК, генерируемых в присутствии дексаметазона у здоровых доноров, и на основании фенотипических и функциональных свойств ИФН-ДК (декс) делает заключение о возможности получения ИФН-ДК с толерогенными свойствами.

В разделе 3.2. автором представлены фенотипические и функциональные характеристики дендритных клеток двух типов клеток (ИФН-ДК и ИЛ4-ДК). Полученные данные свидетельствуют, что ИФН-ДК (декс) характеризуются более выраженными толерогенными свойствами по сравнению с ИЛ4-ДК (декс).

В разделе 3.3 автором представлены данные о свойствах ИФН-ДК у больных ревматоидным артритом и показана возможность генерации толерогенных ИФН-ДК у этих пациентов.

В разделе 3.4 представлены данные, свидетельствующие о наличии ингибирующего эффекта ИФН-ДК (декс) на собственные Т-клетки больных ревматоидным артритом, описана способность ИФН-ДК индуцировать апоптоз, активацию Т-регуляторных клеток, состояние гипореактивности Т-лимфоцитов, а также супрессивный эффект ИФН-ДК (декс) на Т-клетки, стимулированные зрелыми дендритными клетками.

В разделе 3.5 автором показано влияние терапии глюкокортикоидами на свойства ИФН-ДК до и после проведения пульс-терапии, а также в сравне-

нии со свойствами дендритных клеток, находящихся на терапии обычными болезнью модифицирующими препаратами. Полученные данные об усилении толерогенных свойств ДК больных, полученных после пульс-терапии, свидетельствуют о реализации эффекта глюкокортикоидов на ИФН-ДК *in vivo*. Также автором изучены особенности субпопуляционного состава моноцитов у больных РА и выявлена взаимосвязь между содержанием CD14⁺CD16⁺⁺ моноцитов и эффектом глюкокортикоидов на ИФН-ДК *in vivo* и *in vitro*.

В главе «Обсуждение» автор анализирует полученные результаты в контексте известных данных и дает им оценку с точки зрения новизны и значимости, что еще раз подтверждает эрудицию автора.

В главе «Заключение» автор подводит итог проведенных исследований.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного диссертационного исследования.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с существующими требованиями, а его содержание соответствует данным, представленным в диссертации, и содержит основные результаты, необходимые для суждения об обоснованности выводов.

Работа соответствует паспорту специальности 14.03.09 - клиническая иммунология в разделах:

- Изучение патогенеза иммунозависимых заболеваний (иммунодефицитных состояний, аллергической и аутоиммунной патологии).
- Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики аллергических и иммунопатологических процессов.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет.

Однако, хотелось бы задать автору ряд вопросов:

1. Поясните, пожалуйста, какие пациенты составили группу «доноров», как они соотносились с обследованными пациентами с ревматоидным артритом по полу, возрасту. Какие критерии включения и исключения использовались при формировании обследуемых групп?

2. Обоснуйте, пожалуйста, почему в качестве маркера "толерогенности" Вы выбирает рецептор врожденного иммунитета TLR-2?
3. В своей работе Вы рассматриваете возможность использования дендритных клеток в лечении ревматоидного артрита. В научной литературе существуют данные о внутрисуставном их введении. Хотелось бы узнать Ваше мнение о том, способны ли дендритные клетки мигрировать в суставы и обратно? И насколько такой метод введения является патогенетически обоснованным?
4. Известно, что до настоящего времени глюкокортикоиды используются в лечении различных аутоиммунных заболеваний. Существуют ли данные научной литературы об их способности влиять на свойства дендритных клеток *in vivo* при использовании гормонотерапии.

Заключение

Диссертационная работа Юлии Дмитриевны Курочкиной «Эффект глюкокортикоидов на функции интерферон-альфа индуцированных дендритных клеток здоровых доноров и больных ревматоидным артритом», выполненная при научном руководстве д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Черных Е.Р., является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методическом уровне, в которой, на основании проведенных исследований, получен фактический материал и содержится решение важной и актуальной научной для клинической иммунологии задачи – изучено влияние дексаметазона на свойства интерферон-альфа индуцированных дендритных клеток у доноров и больных ревматоидным артритом.

Диссертационное исследование по актуальности темы, научно-методическому уровню, научно-практической и теоретической значимости полученных результатов и выводов полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013г. (в редакции постановления Правительства РФ № 1168 335 от 01.10 2018 г.), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор, Курочкина Ю.Д., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории
иммунологии Федерального Государственного
Бюджетного Учреждения «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины» СО РАН
доктор медицинских наук (по специальности
14.03.03-патологическая физиология, 14.03.09-
клиническая иммунология, аллергология),
профессор



Трунов Александр Николаевич



Почтовый адрес: 630117, Россия, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2

Телефон: +7 (383)335-98-50; +79139100316

Сайт: <https://frcftm.ru>,

Адрес электронной почты: director@centercem.ru trunov1963@yandex.ru