


«УТВЕРЖДАЮ»

директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский медицинский центр
Российской академии наук», доктор
биологических наук, профессор, член-
корреспондент РАН


Степанов Вадим Анатольевич
« 15 » ноября 2021 года



ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертационной работы Жуковой Юлии Владимировны «Ко-экспрессия и среднее количество рецепторов к фактору некроза опухоли альфа на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток в норме и у пациентов с ревматоидным артритом», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертация Жуковой Ю.В. «Ко-экспрессия и среднее количество рецепторов к фактору некроза опухоли альфа на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток в норме и у пациентов с ревматоидным артритом» посвящена актуальной проблеме.

Ревматоидный артрит (РА) является одним из наиболее часто встречающихся среди группы аутоиммунных заболеваний, в патогенезе которого одну из ведущих ролей играет фактор некроза опухоли альфа (TNF α). TNF α в организме модулирует множество сигнальных путей с широким диапазоном последующих эффектов. Свои эффекты TNF α

реализует, через два типа рецепторов, которые играют разные независимые роли, но также могут демонстрировать частично перекрывающиеся сигнальные механизмы. Для понимания регуляции функционального ответа важно учитывать не только тип рецептора, с которым связывается TNF α , но и среднее количество рецепторов на клетках и соотношение различных типов рецепторов. В исследованиях механизмов действия разных типов цитокинов показано, что количество самого цитокина в крови, а также соотношение различных типов рецепторов (ко-экспрессия) и среднее количество рецепторов может влиять на тип и интенсивность реагирования клеток на действие цитокина. Таким образом, изучение ко-экспрессии в сочетании с определением среднего количества рецепторов на клетках могут наиболее полно отражать возможность клеток реализовывать различный ответ на действие цитокина. Оценка данных параметров может являться перспективной для понимания механизмов регуляции иммунного ответа клеток в норме и при развитии патологии, а также стать дополнительным критерием диагностики иммуноопосредованных заболеваний.

До сих пор остается достаточно много неизученного в вопросах механизмов действия TNF α и реализации его биологических эффектов. В этом аспекте работа Жуковой Ю.В. позволит лучше понимать пути передачи сигнала от мембранных форм рецептора, особенности регуляции его действия на разные типы клеток не только в норме, но и при РА, а также других заболеваниях.

Соответствие темы диссертации научной специальности

Диссертационная работа Жуковой Ю.В. посвящена исследованию качественного и количественного соотношения двух основных типов рецепторов к фактору некроза опухоли альфа на различных популяциях иммунокомпетентных клеток у здоровых лиц и у пациентов с ревматоидным артритом. Тематика диссертации полностью соответствует паспорту научной специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология,

поскольку направлена на изучение функционирования иммунной системы, патогенеза ревматоидного артрита, а также разработку метода диагностики данного заболевания.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне. Современные методы исследования, тщательный анализ экспериментальных данных, релевантные методы статистического анализа обеспечивают достоверность полученных результатов. Выводы обоснованы результатами исследований и четко сформулированы.

Научная новизна

В работе впервые проведена оценка среднего количества рецепторов к TNF α 1-го и 2-го типов и их ко-экспрессия на 12 субпопуляциях иммунокомпетентных клеток у здоровых доноров и пациентов с РА. Полученные данные показали, что у здоровых доноров основные субпопуляции иммунокомпетентных клеток различаются между собой по ко-экспрессии и среднему количеству рецепторов.

При проведении сравнительной оценки ко-экспрессии рецепторов у пациентов с различной активностью ревматоидного артрита на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток, были выявлены различия в ко-экспрессии рецепторов по большинству субпопуляций. Сравнение ко-экспрессии рецепторов к TNF α у пациентов с обострением РА и после прохождения курса терапии, показало влияние проводимой терапии на ко-экспрессию рецепторов, которое характеризовалось повышением процента дубль-отрицательных клеток. Проведение математического анализа полученных данных показало, что экспрессия рецепторов, которые значимо различаются у пациентов с РА коррелируют с клиническими проявлениями заболевания.

Теоретическая значимость

Полученные в ходе работы данные, позволяют раскрыть отдельные молекулярные механизмы регуляции и оценить особенности экспрессии мембраносвязанных рецепторов к TNF α на различных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток, что способствует расширению современных представлений о влиянии рецепторов на функциональный ответ клетки в норме и при ревматоидном артрите, а также обосновывают перспективы их исследования в качестве маркеров прогноза или для разработки терапевтических подходов.

В исследовании показано, что субпопуляции иммунокомпетентных клеток здоровых доноров значительно различаются по ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типа к TNF α . Оценка этих показателей на субпопуляциях Т-клеток выявила различия в сочетанной экспрессии рецепторов между субпопуляциями, что, по мнению автора, может свидетельствовать о различном уровне и типе ответа клеток на цитокин. При оценке ко-экспрессии рецепторов к TNF α у здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом было показано, что исследованные субпопуляции иммунокомпетентных клеток значительно различаются по ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типа к TNF α как между собой, так и по сравнению с показателями здоровых доноров. При сравнении показателей ко-экспрессии у пациентов, прошедших патогенетическую терапию ритуксимабом и здоровых доноров характерно увеличение процента дубль-отрицательных клеток, что автор объясняет влиянием проводимой терапии.

Научно-практическая значимость

Практическая значимость работы заключается в построении диагностической модели для ревматоидного артрита. Модель включает в себя процент TNFR1⁺TNFR2⁻ клеток среди наивных Т-хелперных клеток, количество рецепторов 1-го типа на Т-хелперных клетках памяти и количество рецепторов 2-го типа на CD3⁺ Т-клетках и позволяет на

основании лабораторных данных проводить диагностику ревматоидного артрита. Новизна и приоритет исследования подтверждены патентом РФ.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Ю.В. Жуковой имеет классическую структуру и состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 155 страницах, содержит 28 рисунков и 20 таблиц. Библиографический список включает 285 источника, из них 259 зарубежных.

Цель исследования сформулирована корректно и заключается в проведении сравнительного анализа ко-экспрессии и среднего числа рецепторов 1-го и 2-го типа к TNF α у здоровых доноров и пациентов с РА на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток и оценке значимости указанных показателей для диагностики РА.

Обзор литературы полностью соответствует теме диссертации, логично построен и отражает все современные аспекты изучаемой проблемы.

Материалы и методы, использованные в исследовании, подробно описаны. Выбор методов соответствует поставленным задачам и способствует их решению.

В главе «Результаты» описываются результаты собственных исследований. В частности, описаны результаты исследования ко-экспрессии и среднего количества рецепторов у здоровых доноров на основных популяциях, субпопуляциях Т-клеток. Далее отражены результаты сравнительной оценки этих параметров у пациентов с ревматоидным артритом и прошедших патогенетическую терапию. И в заключении автор приводит результаты корреляционного и математического анализа.

В разделе «Обсуждение» автором проведен тщательный анализ полученных результатов в контексте данных мировой научной литературы, что позволяет сформировать полное представление о проделанной работе.

В «Заключении» автор кратко обобщает полученные результаты.

Сформулированные выводы логичны и соответствуют результатам исследования.

По теме диссертации автором опубликовано 6 статей в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science/Scopus, и получен 1 патент.

Автореферат отражает основные положения диссертационной работы.

Основные результаты

Автором проведено проспективное когортное обсервационное исследование, в которое включено достаточное количество пациентов. Дизайн исследования полностью соответствует цели. В исследование последовательно решаются поставленные задачи.

В результате выполнения работы было показано, что основные субпопуляции иммунокомпетентных клеток различаются между собой по ко-экспрессии и среднему количеству рецепторов на клетках у здоровых доноров. А именно, показано, что плотность экспрессии рецепторов первого и второго типа на дубль-позитивных клетках у здоровых доноров выше по сравнению с экспрессией данных рецепторов на клетках, экспрессирующих только один из типов рецепторов. Цитотоксические и хелперные клетки памяти отличаются наибольшим процентным содержанием клеток экспрессирующих рецептор TNF 2-го типа в сочетании с высоким средним количеством второго типа рецептора на клетках данных субпопуляций.

Для пациентов с ревматоидным артритом характерно перераспределение соотношения рецепторов по большинству субпопуляций. При этом автор отмечает снижение количества рецепторов TNF 2-го типа и увеличение рецептора 1-го типа. Как и в случае со здоровыми донорами при РА наибольшие отличия наблюдаются для клеток памяти: количество рецепторов TNF 2-го типа на данных субпопуляциях у пациентов с РА выше, чем у здоровых доноров.

В работе проведена оценка ко-экспрессии рецепторов к TNF α у пациентов, прошедших терапию генно-инженерным препаратом ритуксимабом, которая показала влияние проводимой терапии на ко-экспрессию рецепторов.

Автором был проведен поиск корреляционных связей, которые показали, что ко-экспрессия и среднее количество рецепторов к TNF α , у пациентов с РА коррелирует с активностью заболевания. Проведение однофакторного и многофакторного регрессионного анализа позволило автору построить математическую модель диагностики РА на основе объективных лабораторных данных.

Анализ исследуемых иммунологических параметров проведен корректно, с использованием очень большого объема данных. Статистическая обработка полученных результатов выполнена адекватными методами с учетом требований к анализу данных медико-биологических исследований, что позволяет обосновать полученные результаты и сделать корректные выводы. Апробация полученных данных в форме научных публикаций и докладов на научных конференциях и семинарах определяют обоснованность и достоверность выносимых на защиту выводов.

Выводы диссертации базируются на изучении достаточного объема экспериментального материала, четко сформулированы, логично вытекают из полученных результатов исследования.

Принципиальных замечаний нет, но есть замечания оформительского плана: в тексте диссертации и автореферата встречаются опечатки, много пропущенных знаков препинания, несогласованность слов в предложениях, в автореферате при обсуждении полученных данных практически не приводятся данные литературы. Диссертация и автореферат не вполне соответствуют ГОСТу Р 7.0.11-2011 по структуре и правилам оформления диссертации и автореферата диссертации: отсутствует раздел «Степень разработанности темы», в тексте диссертации нет раздела «Методология и методы исследования», выравнивание в диссертации по левому краю, а не по

ширине, не соблюден рекомендуемый абзацный отступ и межстрочный интервал, подписи к рисункам и таблицам не соответствуют ГОСТу 2.105 и др. Библиографический список включает 285 источника, но лишь 11% из них за последние 5 лет.

Вопрос дискуссионного плана:

Почему экспрессия рецептора 1-го типа к $\text{TNF}\alpha$ (TNFR1), активация которого в основном запускает провоспалительные пути, на некоторых субпопуляциях иммунокомпетентных клетках (моноциты, В-лимфоциты, CD4^+ клетки, наивные Т-хелперные клетки, активированные Т-хелперные клетки и др.) не коррелирует со степенью активности ревматоидного артрита у больных?

Заключение

Диссертационная работа Жуковой Ю.В. «Ко-экспрессия и среднее количество рецепторов к фактору некроза опухоли альфа на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток в норме и у пациентов с ревматоидным артритом», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований, решены задачи, важные для фундаментальной и клинической иммунологии, а именно: выявлены особенности экспрессии обоих типов рецепторов к TNF на различных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток. Диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции от 01.10.2018 г. с изменениями от 11.09.21 г. № 335), а ее автор достоин присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании отдела иммунофармакологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ «12» ноября 2021 года, Протокол № 4.

Отзыв составил заведующий
отделом иммунофармакологии
Научно-исследовательского института
фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга Федерального государственного
бюджетного научного учреждения «Томский
национальный исследовательский медицинский
центр Российской академии наук»,
доктор медицинских наук, профессор

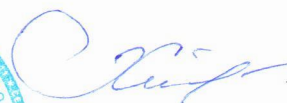


Шерстобоев
Евгений Юрьевич

634028, г. Томск, пр. Ленина, д. 3. Тел.: 8(3822) 41-77-05, e-mail:
sherstoboev_eu@pharmso.ru.

«Подпись Шерстобоева Е.Ю. заверяю»

Ученый секретарь Томского НИМЦ,
кандидат биологических наук



И.Ю. Хитринская