

ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующей лабораторией биологии лентивирусов Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», кандидата биологических наук Носик Марины Николаевны на диссертационную работу Храмовой Татьяны Владимировны на тему «Механизм развития CD4⁺-лимфоцитопении у крыс, вызванной иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Актуальность темы диссертационной работы

Прогрессивная потеря CD4⁺ Т-лимфоцитов в ходе ВИЧ-инфекции, ведущая к развитию иммунодефицита, не всегда может быть полностью предотвращена существующей антиретровирусной терапией. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что, истощение CD4⁺ Т-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции происходит главным образом за счет неинфицированных ВИЧ клеток, механизм гибели которых остается до конца неясным. Одной из гипотез, объясняющих механизм истощения неинфицированных CD4⁺ Т-лимфоцитов в ходе ВИЧ-инфекции, является аутоиммунная гипотеза СПИДа, согласно которой причиной гибели неинфицированных CD4⁺ Т-лимфоцитов и развития иммунодефицита является запускаемая вирусом аутоиммунная реакция против CD4⁺-лимфоцитов. Однако несмотря на то, что в настоящий момент накоплено довольно много фактов, говорящих в пользу данной гипотезы, она пока не приобрела статус общепринятой.

Дополнительные исследования, подтверждающие аутоиммунную гипотезу СПИДа, могут позволить глубже понять механизм гибели неинфицированных ВИЧ CD4⁺ Т-лимфоцитов и послужить фундаментальной основой для разработки новых стратегий, и средств предотвращения развития

иммунодефицита у ВИЧ-инфицированных людей. В связи с этим, тема исследования диссертационной работы Храмовой Татьяны Владимировны, посвященное выяснению роли аутоиммунной реакции против CD4⁺-лимфоцитов в истощении неинфицированных CD4⁺ Т-лимфоцитов, является актуальной и современной.

Научная новизна исследования и полученных результатов диссертационной работы

Несомненная научная новизна работы заключается в том, что автором впервые было показано, что иммунизация гликопротеином ВИЧ-1 gp120 вызывает у крыс Wistar продукцию аутоантител к CD4, сопровождающуюся развитием CD4⁺-лимфоцитопенией, и что крысы Wistar, иммунизированные гликопротеином ВИЧ-1 gp120, являются новой экспериментальной моделью для исследования аутоиммунной CD4⁺-лимфоцитопенией, запускаемой ВИЧ-1 у человека. Аутоиммунная CD4⁺-лимфоцитопения крыс Wistar возникает в ответ на иммунизацию антигеном ВИЧ-1, без инфицирования животных, поэтому, в отличие от существующих инфекционных экспериментальных моделей CD4⁺ Т-лимфоцитопенией, впервые однозначно продемонстрирована ключевая роль аутоантител против CD4, индуцируемых ВИЧ-1, в гибели CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции.

Также, впервые показана роль антител против МНС II в регуляции продукции аутоантител против CD4, индуцируемых иммунизацией гликопротеином ВИЧ-1 gp120. Изучена роль регуляторного ревматоидного фактора в развитии иммунного ответа против гликопротеина ВИЧ-1 gp120 и показано, что регуляторный ревматоидный фактор не участвует в регуляции иммунного ответа против gp120 ВИЧ-1 и не контролирует развитие аутоиммунной реакции против CD4 у крыс.

Автором исследования представлена новая гипотеза о механизме гибели неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, согласно которой гибель CD4⁺-лимфоцитов является результатом совместного действия

аутоантител к CD4, индуцируемых gp120 ВИЧ-1, и регуляторного ревматоидного фактора, естественно присутствующего в крови.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором в полной мере решены поставленные задачи, позволившие достичь обозначенной цели исследования, что отражено в выводах исследования. Сформулированные в диссертации научные положения и выводы обоснованы теоретическими решениями и экспериментальными данными, полученными в работе, согласуются с известными фактами, и не противоречат известным положениям иммунологии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость настоящего исследования заключается в получении новых данных, проясняющих иммунопатогенез ВИЧ-инфекции у человека. Факт развития CD4⁺-лимфоцитопении у крыс Wistar на фоне продукции аутоантител к CD4, индуцированных иммунизацией гликопротеином ВИЧ-1 gp120, в отсутствие ВИЧ-инфекции, подтверждает аутоиммунную гипотезу истощения CD4⁺ Т-лимфоцитов, наблюдаемую у ВИЧ-инфицированных людей и поднимает вопрос о профилактике, и лечении ВИЧ-инфекции как аутоиммунного заболевания, вызываемого вирусной инфекцией.

Представленная гипотеза о механизме гибели неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, согласно которой регуляторный ревматоидный фактор является ко-фактором цитопатического действия аутоантител к CD4, объясняет молекулярно-клеточный механизм цитопатического действия аутоантител к CD4 на CD4⁺ Т-лимфоциты при ВИЧ-инфекции, а также конкретизирует современную гипотезу активационно-индуцированной гибели CD4⁺ Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных людей. Полученная экспериментальная модель аутоиммунной CD4⁺-лимфоцитопении крыс, запускаемая иммунизацией gp120 ВИЧ-1, расширяет знания о патогенезе ВИЧ-инфекции, а именно, о

механизме индукции аутоантител к CD4 и механизмах истощения неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции.

Практическая значимость настоящего исследования заключается в возможности использования новой неинфекционной экспериментальной модели аутоиммунной CD4⁺-лимфоцитопении крыс для испытания эффективности новых вакцин против ВИЧ и средств лечения ВИЧ-инфекции, основанных на принципиально новом подходе – предотвращении или подавлении развития аутоиммунной реакции к CD4⁺-лимфоцитам, запускаемой гликопротеином ВИЧ-1 gp120.

Достоверность и апробация результатов исследования

Достоверность результатов диссертационной работы Т.В. Храмовой не вызывает сомнений и обеспечивается использованием современных методов иммунологического и иммунохимического анализа, проведением экспериментальных исследований на выборках достаточного объема, использованием адекватных статистических критериев для оценки достоверности выявленных различий.

Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры иммунологии и клеточной биологии института естественных наук ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет» (протокол №8 от 23.06.2020). Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на 2 региональных и 5 всероссийских конференциях.

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 5 публикаций (тезисы) в научных журналах, рекомендованных ВАК и 3 статьи в зарубежных научных изданиях, индексируемых в базах данных научного цитирования Web of Science, Scopus; 1 статья в сборнике статей всероссийской конференции, а также 2 публикации (тезисы) опубликованы в материалах вузовских конференций.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа построена по классическому типу и оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК к кандидатским

диссертациям. Диссертационное исследование изложено на 107 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания организации и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, а также списка литературы, включающего 9 отечественных и 193 зарубежных источника.

В введении обозначена актуальность проблемы, указаны цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, и основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации «Обзор литературы» представляет собой логически выстроенный анализ достаточно большого количества источников литературы по теме исследования, большинство из которых иностранные. Первый раздел данной главы посвящен краткому описанию особенностей ВИЧ-инфекции и причин, сдерживающих разработку эффективных средств лечения и профилактики ВИЧ-инфекции и СПИДа. Второй раздел обзора литературы посвящен рассмотрению существующих гипотез, объясняющих гибель неинфицированных ВИЧ CD4⁺ Т-лимфоцитов. В третьем разделе обзора литературы представлена аутоиммунная гипотеза СПИДа и приведены факты в пользу того, что причиной развития иммунодефицита при ВИЧ-инфекции является аутоиммунная реакция против CD4⁺ Т-лимфоцитов, индуцируемая идиотип-антиидиотипическими взаимодействиями в ответ на гликопротеин ВИЧ-1 gp120 и приводящая к гибели неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов. В четвертом разделе приведены данные литературы о возможной роли антиидиотипических антител, в качестве которых автор рассматривает регуляторный ревматоидный фактор и естественные аутоантитела к HLA, в патогенезе ВИЧ-инфекции. В целом, приведенный автором обзор литературы достаточно полно обосновывает необходимость исследования по выбранной автором теме.

Во второй главе диссертационного исследования описаны дизайн, материалы и методы исследования. Исследования были проведены на

лабораторных крысах Wistar. Материалами исследования служили цельная кровь, плазма крови крыс, а также фракции мононуклеаров, полученных из периферической крови крыс. В ходе исследования автором были использованы современные иммунологические анализы, в том числе иммуноферментный анализ, агглютинационный тест, а также метод проточной цитофлуориметрии. Используемые методы соответствуют цели и задачам рассматриваемого диссертационного исследования.

Глава 3 «Результаты собственных исследований» содержит описание результатов диссертационного исследования, их обсуждение, а также анализ связи полученных результатов с известными данными литературы. Глава поделена на четыре раздела, соответственно поставленным задачам.

В первом разделе показано, что с помощью однократной внутрикожной иммунизации гликопротеином ВИЧ-1 gp120, у крыс Wistar можно индуцировать хроническую продукцию аутоантител к CD4 и развитие транзиторной CD4⁺-лимфоцитопении.

Во втором разделе главы 3 исследована роль антиидиотипических антител (регуляторного ревматоидного фактора и антител к HLA-II) в регуляции иммунного ответа у крыс Wistar, вызываемого гликопротеином ВИЧ-1 gp120. Показано, что в крови крыс Wistar, иммунизированных gp120 ВИЧ-1, уровень аутоантител к CD4 ниже у крыс, продуцирующих антитела к альфа-цепи HLA-DR, и не зависит от уровня регуляторного ревматоидного фактора.

В третьем разделе главы 3 показано, что хотя снижение CD4⁺-лимфоцитов в крови крыс, иммунизированных гликопротеином ВИЧ-1 gp120, ассоциировано с наличием сывороточных аутоантител к CD4, корреляции между уровнем аутоантител к CD4 и количеством CD4⁺-лимфоцитов нет.

В четвертом разделе главы «Результаты собственных исследований» показано, что CD4⁺-лимфоциты в крови крыс, продуцирующих аутоантитела к CD4 в ответ на иммунизацию gp120 ВИЧ-1, и CD4⁺-лимфоциты *in vitro*, обработанные плазмой, полученной от иммунизированных gp120 крыс, и

содержащие аутоантитела к CD4, погибают под действием регуляторного ревматоидного фактора, естественно присутствующего в крови. На основе полученных данных, а также данных литературы, автором сформулирована гипотеза аутоиммунной гибели неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, согласно которой аутоантитела к CD4 приводят к генерализованной активации CD4⁺-лимфоцитов, а регуляторный ревматоидный фактор, присутствующий в крови в норме, выступает для активированных CD4⁺-лимфоцитов в качестве второго активационного сигнала, т.е. сигнала, ведущего к гибели.

Раздел «Заключение» содержит краткое описание результатов исследования и их значимости. Выводы обоснованы, соответствуют задачам исследования и согласуются с положениями, выносимыми на защиту. Автореферат диссертации соответствует ее содержанию.

Соответствие специальности

Диссертационное исследование Храмовой Т.В. полностью соответствует специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Храмовой Татьяны Владимировны на тему «Механизм развития CD4⁺-лимфоцитопении у крыс, вызванной иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук, профессора Бедулевой Любови Викторовны, содержащей новое решение актуальной научной задачи – выяснение механизма гибели неинфицированных CD4⁺-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, ведущей к развитию иммунодефицита - имеющей существенное значение для специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Диссертационная работа Храмовой Татьяны Владимировны на тему «Механизм развития CD4⁺-лимфоцитопении у крыс, вызванной иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 –

клиническая иммунология, аллергология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335, от 2 августа 2016 года №748, от 29 мая 2017 года №650, от 28 августа 2017 года №1024, от 01 октября 2018 года №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Храмова Татьяна Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук (03.02.02 - Вирусология), заведующая лабораторией биологии лентивирусов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; 105064 Москва, Малый Казенный пер., 5А; тел.: +7 (495) 917-49-00; e-mail: mnossik@yandex.ru

Носик Марина Николаевна

11.03.2021

Подпись М.Н. Носик заверяю

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный пер., 5А; тел.: +7 (495) 917-49-00;

e-mail: mech.inst@mail.ru

Кандидат медицинских наук



Светлана Николаевна Жирова