

## ОТЗЫВ

официального оппонента, заместителя директора по инновационной работе, заведующего лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, доктора биологических наук Семенова Александра Владимировича на диссертационную работу Храмовой Татьяны Владимировны на тему «Механизм развития CD4<sup>+</sup>-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

Начало XXI века ознаменовалось существенным прогрессом в терапии ВИЧ-инфекции, выразившемся в значительном увеличении продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных пациентов за счет внедрения высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ). Это увеличение оказалось настолько существенным, что к концу второго десятилетия XXI века стало возможным говорить о потенциальном равенстве времени дожития ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных лиц. Вместе с тем, остался целый ряд важнейших вопросов, ответы на которые еще предстоит найти. К ним можно отнести и проблему резистентности ВИЧ к препаратам ВААРТ, и проблему оппортунистических инфекций, и проблему истощения популяции Т-клеток даже у пациентов с успешным течением терапии ВИЧ-инфекции.

Прогрессивная потеря CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в ходе ВИЧ-инфекции, ведущая к развитию иммунодефицита, не всегда может быть полностью предотвращена существующей антиретровирусной терапией. Согласно многочисленным фактам истощение CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции

происходит главным образом за счет неинфицированных ВИЧ клеток, механизм гибели которых остается до конца не понятным. Одной из гипотез, объясняющих механизм истощения неинфицированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в ходе ВИЧ-инфекции, является аутоиммунная гипотеза иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции, согласно которой причиной гибели неинфицированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и развития иммунодефицита является запускаемая вирусом аутоиммунная реакция против CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. Однако фактов в пользу данной гипотезы, недостаточно, для того, чтобы она приобрела статус общепринятой. Обнаружение фактов в пользу аутоиммунной гипотезы развития СПИД могут позволить глубже понять механизм гибели неинфицированных ВИЧ CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и послужить основой для разработки новых стратегий и средств предотвращения развития иммунодефицита у ВИЧ-инфицированных больных. Вышесказанное подтверждает связь с решением актуальной научно-практической задачи диссертационного исследования Храмовой Татьяны Владимировны, посвященного выяснению роли аутоиммунной реакции против CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в истощении неинфицированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

#### **Новизна результатов диссертационного исследования**

Впервые показано, что иммунизация gp120 гликопротеином ВИЧ-1 вызывает у крыс Wistar продукцию аутоантител к CD4, сопровождающуюся развитием CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении. Развивающаяся аутоиммунная CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопения у крыс Wistar, иммунизированных gp120 гликопротеином ВИЧ-1, является новой экспериментальной моделью аутоиммунной CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении, запускаемой ВИЧ у человека. Аутоиммунная CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопения крыс Wistar возникает в ответ на иммунизацию антигеном ВИЧ, без инфицирования животных, поэтому, в отличие от существующих инфекционных экспериментальных моделей CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитопении, впервые однозначно демонстрирует ключевую роль аутоантител против CD4, индуцируемых ВИЧ, в гибели CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции. Впервые показана роль антител против МНС II в регуляции продукции

аутоантител против CD4, индуцируемых иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ-1. Изучена роль регуляторного ревматоидного фактора – аутоантител, сдерживающих агрессивные аутоиммунные реакции в норме – в развитии иммунного ответа против gp120 гликопротеина ВИЧ-1. Показано, что регуляторный ревматоидный фактор не участвует в регуляции иммунного ответа против gp120 гликопротеина ВИЧ-1 и не контролирует развитие аутоиммунной реакции против CD4 у крыс. Представлена новая гипотеза о механизме гибели неинфицированных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции. Согласно данной гипотезе гибель CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов является результатом совместного действия аутоантител к CD4, индуцируемых gp120 гликопротеином 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<sup>+</sup>-лимфоцитопении у крыс Wistar на фоне продукции аутоантител к CD4, индуцированных иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ-1, в отсутствие ВИЧ-инфекции, говорит в пользу аутоиммунной гипотезы истощения CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции у людей и поднимает вопрос о профилактике и лечении ВИЧ-инфекции как аутоиммунного заболевания, вызываемого вирусной инфекцией. Представленная гипотеза о механизме гибели неинфицированных CD4<sup>+</sup>-

лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, согласно которой регуляторный ревматоидный фактор является кофактором цитопатического действия аутоантител к CD4, объясняет молекулярно-клеточный механизм цитопатического действия аутоантител к CD4 на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты при ВИЧ-инфекции, а также конкретизирует современную гипотезу активационно-индуцированной гибели CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных людей.

Полученная экспериментальная модель аутоиммунной CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении крыс, запускаемая иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ-1, расширяет знания о патогенезе ВИЧ-инфекции, а именно, о механизме индукции аутоантител к CD4, механизмах истощения неинфицированных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции. Практическая значимость настоящего исследования заключается в возможности использования новой неинфекционной экспериментальной модели аутоиммунной CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении крыс для испытания эффективности новых анти-ВИЧ вакцин и средств лечения ВИЧ-инфекции, основанных на принципиально новом подходе – предотвращении или подавлении развития аутоиммунной реакции к CD4<sup>+</sup>-лимфоцитам, запускаемой gp120 гликопротеином ВИЧ-1.

#### **Достоверность и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов диссертационного исследования 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 общим объемом 3 печатных листа, в том числе 3 статьи в зарубежных научных изданиях, индексируемых в базах данных научного цитирования Web of Science, Scopus, 5 публикаций (тезисы) в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, 1 статья в сборнике статей всероссийской конференции, а также 2 публикации (тезисы) опубликованы в материалах вузовских конференций.

### **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации**

Диссертация 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.

Во введении соискатель формулирует актуальность и степень разработанности темы своего исследования, цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, приводит основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации «Обзор литературы» представляет собой логически выстроенный анализ большого количества источников литературы по теме исследования. Первый раздел данной главы посвящен краткому описанию особенностей ВИЧ-инфекции. Второй раздел обзора литературы посвящен рассмотрению существующих гипотез, объясняющих гибель неинфицированных ВИЧ CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. В третьем разделе представлена аутоиммунная гипотеза СПИДа, приведены факты в пользу того, причиной развития иммунодефицита при ВИЧ-инфекции является аутоиммунная реакция против CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, индуцируемая

посредством идиотип-антиидиотипических взаимодействий в ответ на gp120 гликопротеин. В четвертом разделе приведены данные литературы о возможной роли антиидиотипических антител, в т.ч. регуляторного ревматоидного фактора и естественных аутоантител к HLA, в патогенезе ВИЧ-инфекции. В целом, приведенный автором обзор литературы достаточно полно обосновывает необходимость исследования по выбранной теме.

Глава 2 диссертационного исследования содержит дизайн, материалы и методы исследования. Исследования проведены на лабораторных крысах Wistar. Материалами исследования служили цельная кровь, плазма крови и фракции мононуклеаров периферической крови крыс. В ходе исследования были использованы адекватные методы анализа: иммуноферментный анализ, агглютинационный тест, а также метод проточной цитофлуориметрии. Использованные 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, разделы соответствуют поставленным задачам. В первом разделе показана методика развития у крыс Wistar хронической продукции аутоантител к CD4 и развития транзиторной CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении. Во втором разделе главы 3 исследована роль антиидиотипических антител - регуляторного ревматоидного фактора и антител к HLA-II – в регуляции иммунного ответа, вызываемого gp120 гликопротеином ВИЧ-1 у крыс Wistar. Показано, что в крови крыс Wistar, иммунизированных gp120 гликопротеином 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<sup>+</sup>-лимфоцитов в крови крыс, иммунизированных gp120 гликопротеином ВИЧ-1, ассоциировано с наличием сывороточных аутоантител к CD4, корреляции между уровнем аутоантител к

CD4 и количеством CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов нет. В четвертом разделе главы «Результаты собственных исследований» показано, что CD4<sup>+</sup>-лимфоциты в крови крыс, продуцирующих аутоантитела, и CD4<sup>+</sup>-лимфоциты *in vitro*, обработанные плазмой, содержащей аутоантитела к CD4 и полученной от gp120-иммунизированных крыс, 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<sup>+</sup>-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, согласно которой аутоантитела к CD4 приводят к генерализованной активации CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, а регуляторный ревматоидный фактор, присутствующий в крови в норме, выступает для активированных CD4<sup>+</sup>-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.

#### **Замечания и вопросы**

Принципиальных замечаний или возражений, умаляющих достоинство диссертационного исследования Храмовой Татьяны Владимировны, нет, однако в порядке научной дискуссии хотелось бы задать несколько вопросов:

1. В качестве модельного объекта автором выбрана линия крыс Wistar, одного из наиболее распространенных типов линейных лабораторных крыс, насколько корректно будет по мнению автора говорить об универсальности модели аутоиммунной агрессии при переносе на другие линии крыс или другие животные модели?
2. Какие биомаркеры могут быть наиболее информативны в диагностике аутоиммунной агрессии CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов для оценки характера течения и прогноза развития заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов в свете полученных результатов?

3. Считает ли автор достаточной выборку из трех крыс для достоверного корреляционного анализа, определяющего наличие или отсутствие достоверной связи между снижением числа CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов и повышением уровня регуляторного ревматоидного фактора?

#### **Соответствие специальности**

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

#### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Храмовой Татьяны Владимировны на тему «Механизм развития CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении у крыс, вызванной иммунизацией gp120 гликопротеином ВИЧ» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – выяснение механизма гибели неинфицированных CD4<sup>+</sup>-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<sup>+</sup>-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:**

доктор биологических наук (14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика, 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология), заместитель директора по инновационной работе, заведующий лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 197101 г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; тел.: +7 (812) 232-3484, +7 (921) 999-0140; email: alexvsemenov@yahoo.com

Семенов Александр Владимирович

Подпись Семенова А.В. заверяю

Ученый секретарь

Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; тел. +7 (812) 233-20-92;

email: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru)

Кандидат медицинских наук



Трифонова Галина Федоровна