

«УТВЕРЖДАЮ»

директор «Института экологии и генетики
микроорганизмов Уральского отделения
Российской академии наук» - филиала
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Пермского федерального
исследовательского центра Уральского
отделения Российской академии наук
д.м.н., профессор, член-корр. РАН

Демаков В. А.



апрель 2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы Ворониной Елены Викторовны на тему: «Созревание Т-фолликулярных хелперов в моделях *in vitro* и при *Helicobacter pylori*-инфекции *in vivo*», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Ворониной Е.В. посвящена изучению актуальных фундаментальных вопросов современной иммунологии. Работа посвящена изучению созревания Т-фолликулярных хелперов в моделях иммунных реакций *in vitro* и при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией *in vivo*. Несмотря на значительный объем накопленной информации о функционировании Т-фолликулярных хелперов, процесс созревания данной группы клеток до сих пор остается

недостаточно исследованным. Представленная диссертационная работа посвящена изучению созревания Т-фолликулярных хелперов человека в моделях *in vitro* при взаимодействии с разными типами антигенпрезентирующих клеток. Понимание механизмов, лежащих в основе индукции гуморального иммунного ответа, необходимо для накопления научной базы знаний о путях осуществления иммунных реакций и для создания качественно новых методов лечения заболеваний, ассоциированных с недостаточной активностью Т-фолликулярных хелперов или их избыточной активацией.

Несмотря на то, что Т-фолликулярные хелперы являются профессиональными стимуляторами гуморального иммунного ответа, при некоторых заболеваниях эти клетки могут выполнять нетипичные функции и участвовать в развитии клеточных иммунных реакций. Так, например, при гастрите и язвенной болезни, ассоциированной с *H. pylori*-инфекцией, продукция Т-фолликулярными хелперами интерлейкина-21 ведет к стимуляции созревания Т-хелперов-17, развитию воспаления и деструкции тканей. В связи этим, актуальным является изучение особенностей созревания Т-фолликулярных хелперов при данных заболеваниях.

Новизна, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе впервые показано, что среди наивных рециркулирующих CD45RO⁺ Т-хелперов обнаруживается группа клеток, несущая молекулы хоминга, необходимые для миграции как в Т-клеточную зону лимфоидных органов, так и в фолликулы и перифолликулярную зону.

Показано, дендритные клетки под действием различных стимуляторов способны экспрессировать хемокиновый рецептор CXCR5, что может позволить данным клеткам мигрировать в область В-клеточных фолликулов.

Выявлено, что наивные Т-хелперы, культивируемые в присутствии дендритных клеток, фактически не приобретают фенотипа, свойственного Т-фолликулярным хелперам. Культивация Т-хелперов с дендритными клетками способствуют созреванию Т-клеток с фенотипом Т-клеток эффекторов или эффекторных Т-клеток памяти $CD4^+CD45RO^+CCR7^-CXCR5^-$.

Впервые установлено, что стимуляция наивных $CD4^+$ Т-лимфоцитов при помощи В-лимфоцитов приводит к созреванию Т-клеток с фенотипом Т-фолликулярных хелперов: они экспрессируют ядерный фактор транскрипции Bcl-6, несут молекулы CD45RO, CXCR5, ICOS, PD-1, OX40, CD40L и утрачивают экспрессию хемокинового рецептора CCR7. Впервые показано, что созревание Т-лимфобластов в смешанных культурах Т- и В-лимфоцитов замедляется в присутствии ингибитора Bcl-6.

Показано, что В-лимфоциты смешанных культур с Т-хелперами увеличивают экспрессию ядерного фактора транскрипции Bcl-6 и снижают экспрессию мембранного IgM, что служит свидетельством взаимной стимуляции созревающих Т-фолликулярных хелперов и В-клеток.

Впервые показано, что при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией, происходит увеличение количества фолликулярных Т-хелперов и появление среди них группы $CD4^+CD45RO^+CXCR5^+CCR6^+$ Т-клеток, ассоциированных с миграцией в лимфоидные ткани желудочно-кишечного тракта.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Ворониной Е.В. выполнена в соответствии с планами Федерального бюджетного учреждения науки Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора в рамках НИР «Исследование хоминга Т-лимфоцитов крови при инфекционных и аутоиммунных

заболеваниях желудочно-кишечного тракта» (№ госрегистрации АААА-А16-116111610216-9). Исследовательская работа по изучению процесса созревания Т-фолликулярных хелперов в условиях *in vitro* была поддержана грантом РФФИ (№ 13-04-00264).

Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы обусловлена изучением фундаментальных вопросов современной иммунологии и расширением имеющихся представлений о реализации гуморального иммунного ответа. В ходе выполнения диссертационной работы был изучен процесс созревания Т-фолликулярных хелперов. В экспериментальных моделях *in vitro* было показано, что процесс созревания Т-фолликулярных хелперов может быть индуцирован путем прямого взаимодействия Т-хелперов и В-лимфоцитов, без предварительного контакта с дендритными клетками.

Практическая значимость диссертации обусловлена разработкой новых экспериментальных моделей изучения созревания Т-фолликулярных хелперов в условиях *in vitro*. Данные модели могут использоваться в современной клеточной иммунологии для изучения процессов межклеточной кооперации клеток иммунной системы в норме и при исследовании механизмов иммунного ответа при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях. Использование разработанных моделей иммунных реакций позволит выявить ключевые молекулы, вовлеченные в индукцию гуморального иммунного ответа для создания принципиально новых способов терапии, направленной на стимуляцию недостаточного гуморального иммунного ответа на патогены или подавление аутоиммунных реакций, природа которых обусловлена усилением активности Т-фолликулярных хелперов и В-лимфоцитов.

В процессе выполнения диссертационной работы были выявлены изменения субпопуляционного состава Т-хелперов при язвенной болезни и

гастродуодените, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией. Полученные данные об изменении содержания патогенетически значимых субпопуляций Т-хелперов при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией, позволяют обозначить роль иммунных процессов в патогенезе данной инфекции и дают возможность для совершенствования диагностики данных заболеваний.

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным объемом исследований с применением современных экспериментальных методов. Апробация работы состоялась на совместном заседании Ученого Совета ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 8.1 от 25 октября 2018 года). Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 6 рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Модели совместного культивирования иммунных клеток в условиях *in vitro* могут использоваться для изучения сигнальных мессенджерных молекул, вовлеченных в индукцию гуморального иммунного ответа и регуляцию иммунных взаимодействий, как в научно-исследовательских целях, так и для разработки принципиально новых препаратов направленной терапии, применимых в качестве лечения аутоиммунных или инфекционных заболеваний.

Целесообразно использование данных диссертационной работы об изменении субпопуляционного состава Т-хелперов при язвенной болезни и гастродуодените, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией, для усовершенствования диагностики данных заболеваний.

Результаты исследования используются в экспериментальной работе

лаборатории иммунохимии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.

Замечания к работе

Принципиальных замечаний к работе нет. Работа заслуживает положительной оценки. Автореферат диссертации полностью отражает основные результаты работы.

Заключение

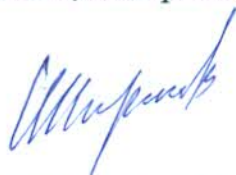
Таким образом, диссертационная работа Вороной Елены Викторовны на тему «Созревание Т-фолликулярных хелперов в моделях *in vitro* и при *Helicobacter pylori*-инфекции *in vivo*» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Талаева Владимира Юрьевича, содержащей новое решение актуальной научной задачи – исследование ранней фазы реализации гуморального иммунного ответа при помощи моделей иммунных реакций и изучение изменений субпопуляционного состава Т-хелперов, при заболеваниях, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией, имеющей существенное значение для клинической иммунологии, аллергологии.

Диссертационная работа Вороной Елены Викторовны «Созревание Т-фолликулярных хелперов в моделях *in vitro* и при *Helicobacter pylori*-инфекции *in vivo*», 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 соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 2 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»),

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Воронина Елена Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании лаборатории иммунорегуляции «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (протокол № 1 от 19.04.2019 г.).

Заведующий лабораторией иммунорегуляции
«Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук
доктор медицинских наук
(14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология),
профессор,
Заслуженный деятель науки РФ



Ширшев Сергей Викторович

Подпись д.м.н., профессора Ширшева С.В., заверяю
Ученый секретарь «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук
кандидат биологических наук



Козлов Сергей Васильевич

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13
Тел.: +7 (342) 280-74-42, e-mail: info@iegm.ru