

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Балмасовой Ирины Петровны на диссертацию Купцовой Дарьи Геннадьевны «Иммунологические критерии эффективности терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами в детском возрасте», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика»

Актуальность темы исследования

Современные исследования патофизиологии псориаза позволяют уверенно утверждать о ведущей роли иммунной системы в развитии и поддержании воспалительной реакции в коже при этом заболевании. Псориаз является одной из распространенных дерматологических патологий в детской популяции, представляя собой системное хроническое заболевание аутоиммунной природы. Распространенность патологии у детей занимает второе место после атопического дерматита и составляет от 0,1% до 1,4% населения мира.

Наиболее эффективным методом лечения тяжелого течения псориаза у детей является применение генно-инженерных биологических препаратов, которые обладают удовлетворительным профилем безопасности. Таргетное действие биологической терапии псориаза основано на блокаде основных провоспалительных цитокинов патогенеза заболевания - TNF α , IL-17, IL-12 и IL-23. Применение биологической терапии у детей с псориазом показало свою эффективность, увеличив продолжительность ремиссии и значительно улучшив качество жизни пациентов. Однако применение биологической терапии связано с определенным риском ее отмены в результате отсутствия ответа на индукционный курс лечения и постепенного снижения эффективности терапии со временем. Возможность прогноза эффективности генно-инженерных биологических препаратов у детей с псориазом на основании патогенетически значимых показателей иммунной системы остается одной из перспективных тем для исследования. Учитывая

сложность иммунопатогенеза псориаза, необходимо изучение широкого спектра иммунологических показателей для разработки персонализированной биологической терапии и ее своевременной коррекции в детском возрасте. Отсутствие официальных протоколов и руководств по назначению и замене генно-инженерных биологических препаратов у детей с псориазом, а также отсутствие лабораторных маркеров эффективности ГИБП обуславливает актуальность данной диссертационной работы.

Соответствие темы диссертации указанной специальности

Тема диссертации посвящена поиску информативных иммунологических критериев прогноза эффективности биологической терапии псориаза у детей. По своей тематике диссертационная работа полностью соответствует паспортам специальностей «3.2.7. Иммунология» и «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика».

Основные результаты диссертационной работы

В работе проведено динамическое наблюдение детей с вульгарным псориазом и выполнен комплексный анализ патогенетически значимых иммунологических показателей, который включал определение содержания основных популяций лимфоцитов, регуляторных Т-клеток, Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов, клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSCs) и субпопуляций CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток памяти периферической крови, определение активности митохондриальных дегидрогеназ в популяциях лимфоцитов и уровня экспрессии ферментов пуринергической регуляции, оценку комплекса про- и противовоспалительных цитокинов, а также определение уровня транслокации ядерного фактора транскрипции κB (NF-κB) в популяциях лимфоцитов. В результате проведенного исследования были выявлены наиболее информативные лабораторные показатели, отражающие тяжесть состояния и позволившие прогнозировать эффективность ГИБП у детей с

псориазом.

При исследовании показателей клеточного иммунитета в зависимости от возраста детей было показано, что возрастная динамика содержания основных популяций лимфоцитов у детей с псориазом соответствует динамике здоровых детей. У детей с псориазом установлено повышение относительного содержания Т-лимфоцитов, Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов и снижение абсолютного количества регуляторных Т-клеток с возрастом, при этом содержание центральных CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток памяти и эффекторных CD4⁺ Т-клеток памяти увеличивалось, а наивных CD4⁺ Т-клеток памяти - снижалось с возрастом. Для пациентов с псориазом показано значительное увеличение содержания популяции активированных Т-хелперов и клеток-супрессоров миелоидного происхождения. Увеличение содержания субпопуляций CD4⁺ Т-клеток (Th17, Treg, Thact), MDSCs и моноцитарной популяции MDSCs в периферической крови напрямую коррелирует с индексами тяжести PASI и BSA.

Изучение интенсивности метаболизма клеток иммунной системы у детей с вульгарным псориазом показало снижение активности митохондриальных дегидрогеназ (сукцинатдегидрогеназы - СДГ, глицерол-3-fosfatдегидрогеназы - ГФДГ) в популяциях лимфоцитов, при этом выявлено повышение функции клеток-супрессоров миелоидного происхождения за счет увеличения уровня экспрессии внутриклеточного фермента аргиназы-1. В работе показано, что тяжелое течение псориаза у детей сопровождалось выраженным снижением активности СДГ в регуляторных Т-клетках и аргиназы-1 в клетках-супрессорах миелоидного происхождения.

Проведенное исследование ферментов пуринергической регуляции у детей с псориазом показало, что наибольшее содержание клеток, экспрессирующих CD39⁺-эктонуклеотидазу, характерно для популяции регуляторных Т-клеток. При снижении индекса PASI происходит

нормализация содержания регуляторных Т-клеток, экспрессирующих CD39⁺-эктонауклеотидазу.

При изучении уровня транслокации NF-кВ в различных популяциях лимфоцитов у детей установлено, что количество клеток с транслокацией NF-кВ зависит от популяции клеток: максимальное количество выявлено в В-лимфоцитах. У детей с псориазом показано увеличение процента клеток с транслокацией NF-кВ в субпопуляциях CD4⁺ Т-клеток - Thact, Treg, Th17 и цитотоксических Th17-лимфоцитах относительно показателей здоровых детей.

В работе подтверждена патогенетическая роль провоспалительных цитокинов в развитии и поддержании воспалительной реакции при псориазе у детей и показано, что уровень провоспалительных цитокинов напрямую отражает тяжесть заболевания по индексу PASI. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов (IFN γ , IL-12p70, IL-1 β , IL-21, IL-23, IL-27, IL-31, TNF α) в сыворотке крови до назначения биологической терапии характерен для пациентов с эффективным лечением ГИБП.

На заключительном этапе работы проводился анализ иммунологических показателей до назначения биологической терапии, к концу индукционного курса и к году лечения у детей с псориазом с разным эффектом ГИБП. Получено, что эффект применения ГИБП у детей с псориазом можно прогнозировать по содержанию активированных Т-хелперов, соотношению Th17/Treg, содержанию наивных и эфекторных Т-клеток памяти в периферической крови, уровню циркулирующих цитокинов в сыворотке крови до назначения биологической терапии. Установлено, что уровень транслокации NF-кВ в NK-клетках, Th17-лимфоцитах и цитотоксических Т-лимфоцитах к концу индукционного курса позволяет прогнозировать эффект ГИБП к году лечения. Выявлено, что снижение относительного содержания регуляторных Т-клеток, экспрессирующих CD39⁺-эктонауклеотидазу, и снижение активности сукцинатдегидрогеназы в них после индукционного курса являются факторами риска потери эффекта терапии ГИБП.

По теме диссертации опубликовано 23 печатные работы, из которых 14 статей в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций и 9 публикаций в материалах конгрессов и конференций.

Достоверность полученных результатов

Достоверность данных диссертационной работы подтверждается использованием широкого комплекса воспроизводимых, современных иммунологических методов исследования, применением адекватного статистического анализа данных, достаточным объемом проведенных исследований, которые позволили сделать обоснованные выводы.

Научная новизна

В работе впервые проведена комплексная оценка показателей клеточного иммунитета, иммунометаболизма лимфоцитов, ферментов пуринергической регуляции Т-клеток, цитокинового профиля и сигнального пути передачи внутриклеточных сигналов ядерного фактора транскрипции κB в иммунных клетках, которая позволила выделить наиболее значимые прогностические критерии эффективности биологической терапии псориаза у детей.

Доказана информативность оценки содержания клеток-эффекторов (Th17, Thact) и клеток-супрессоров (Treg, MDSCs) в качестве новых дополнительных показателей, отражающих тяжесть псориаза у детей. До назначения биологической терапии определены пороговые значения содержания популяций Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов, регуляторных Т-клеток и субпопуляций Т-клеток памяти, которые позволяют прогнозировать эффект терапии блокаторами TNF α и IL-12/23 к году лечения у детей с вульгарным псориазом.

Установлено наличие митохондриальной дисфункции у детей с псориазом, которая выражается в снижении активности митохондриальных

дегидрогеназ (СДГ, ГФДГ) в популяциях лимфоцитов. Показано также изменение уровня экспрессии CD39⁺- и CD73⁺-эктонуклеотидаз в популяциях Т-лимфоцитов и аргиназы-1 в MDSCs. Для контроля активности воспалительного процесса в коже при псориазе у детей показана значимость определения иммунометаболизма лимфоцитов и ферментов пуринергической регуляции функционирования Т-клеток.

Определена информативность оценки уровня транслокации NF-κB в лимфоцитах и пороговые значения данного параметра для прогноза эффективности ГИБП.

Показано значимое увеличение уровня IL-23, IL-22, IL-12p70, IL-27, IL-17E, IL-17F, TNF α в сыворотке крови, коррелирующее с индексом тяжести псориаза по PASI, что подтверждает ключевую роль провоспалительных цитокинов в поддержании воспалительной реакции кожи у детей с псориазом.

В работе установлены критерии эффективности биологической терапии псориаза в детском возрасте, доказавшие участие многих компонентов иммунной системы в патогенезе заболевания.

Теоретическая значимость диссертационной работы

Важным аспектом теоретической значимости данной работы является детальное изучение основных звеньев иммунопатогенеза псориаза, которые позволили доказать роль клеток-эффекторов иммунной системы и провоспалительных цитокинов в развитии и поддержании воспаления при псориазе у детей. Установлено, что показатели клеточного иммунитета информативны в качестве дополнительных лабораторных маркеров, отражающие тяжесть заболевания и эффективность биологической терапии. Раскрыты особенности иммунометаболизма лимфоцитов, супрессорной активности клеток-супрессоров миелоидного происхождения и ферментов пуринергической регуляции функционирования Т-клеток, которые соотносятся с тяжестью воспалительного процесса кожи и эффектом биологической терапии у детей с псориазом. Показан дисбаланс про- и

противовоспалительных цитокинов за счет значительного увеличения IL-23, IL-22, IL-12p70, IL-27, IL-17E, IL-17F, TNF α , а также выявлены взаимосвязи между цитокинами семейства IL-17 (IL-17E и IL-17F) и IL-12 (IL-23 и IL-27) и с цитокинами IL-31 и IL-33, которые подчеркивают роль цитокиновой сети в патогенезе псориаза. В работе подтверждено участие сигнального пути NF- κ B в регуляции воспалительной реакции при псориазе у детей. Полученные результаты вносят значительный вклад в понимание патогенетических механизмов воспаления при иммуноопосредованных заболеваниях.

Научно-практическая значимость диссертационной работы

Значимость диссертации для науки и практической медицины заключается в разработке новых иммунологических лабораторных критериев прогноза эффективности применения ГИБП при псориазе у детей с целью коррекции биологической терапии для достижения долгосрочной ремиссии заболевания и контроля развития нежелательных явлений.

Показана информативность определения содержания Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов, регуляторных Т-клеток, клеток-супрессоров миелоидного происхождения и моноцитарной субпопуляции MDSCs в периферической крови в качестве дополнительных критериев оценки тяжести заболевания псориазом у детей.

Выявленное в работе снижение интенсивности процессов гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах обосновывает развитие дисфункции иммунного ответа у пациентов с псориазом. Показана значимость определения активности СДГ в регуляторных Т-клетках, ГФДГ в общей популяции CD45 $^{+}$ -лимфоцитов и аргиназы-1 в клетках-супрессорах миелоидного происхождения для оценки тяжести состояния пациентов с псориазом.

В работе изучена роль CD39 $^{+}$ - и CD73 $^{+}$ -эктонуклеотидаз в формировании иммунного ответа при псориазе у детей. Мониторинг содержания регуляторных Т-клеток, Th17-лимфоцитов, активированных Т-

хелперов с экспрессией эктонуклеотидаз может быть использован для контроля хронического воспаления, эффективности проводимой биологической терапии и оценки таргетных методов лечения псориаза.

Получены новые данные о количестве активированных клеток с транслокацией NF-кВ в популяциях лимфоцитов, позволяют улучшить мониторинг эффективности биологической терапии псориаза у детей. Показана информативность оценки уровня транслокации NF-кВ в NK-клетках, Th17-лимфоцитах и цитотоксических Т-лимфоцитах к окончанию индукционного курса для прогноза эффективности биологической терапии ГИБП к году.

Разработанные автором новые иммунологические лабораторные критерии эффективности биологической терапии псориаза в детском возрасте, имеют высокое научное и практическое значение, а также открывают перспективы для поиска специфической таргетной терапии заболевания.

Общая характеристика диссертационной работы

Основной текст диссертации изложен на 208 страницах, в традиционном стиле, включает главы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследований», «Обсуждение результатов исследования», «Заключение» и «Список литературы» из 286 источников, в том числе 73 отечественных и 213 зарубежных. Работа хорошо проиллюстрирована 85 рисунками и содержит 40 таблиц, в которых представлен фактический материал проведенного исследования.

Во «Введении» автор излагает актуальность темы исследования и степень ее разработанности, формулирует цель и задачи работы, обобщает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, методологию и личный вклад в выполнении исследования.

В главе «Обзор литературы», состоящий из 10 подразделов, автор подробно останавливается на клинической картине псориаза в детском

возрасте, актуальным методам диагностики и алгоритмам лечения заболевания. Важное и отдельное внимание в главе посвящено современным представлениям о роли различных звеньев иммунной системы в патогенезе псориаза. Описывается роль клеточного иммунитета, метаболизма иммунных клеток, ферментов пуринергической регуляции функционирования Т-клеток, медиаторов воспаления и фактора транскрипции NF-кВ в патогенезе псориаза. Все утверждения сопровождаются ссылками на современные литературные источники в рецензируемых изданиях.

В главе «Материалы и методы исследования» описана подробная характеристика обследованных детей. Продуманный дизайн в полной мере отражает все этапы исследования. Детально описаны алгоритмы использованных современных иммунологических методов, которые отражают высокую квалификацию работы.

Глава «Результаты исследований» включает 5 подразделов, отражающие последовательное изложение полученных результатов. Автором описаны особенности изменения показателей клеточного иммунитета, активности митохондриальных дегидрогеназ, содержания субпопуляций CD4⁺-Т-клеток с экспрессией CD39⁺- и CD73⁺-эктонуклеотидаз, уровня циркулирующих цитокинов, уровня транслокации NF-кВ в лимфоцитах в зависимости от возрастных и клинических характеристик детей с псориазом и в группе сравнения. В пятом подразделе описаны результаты исследования, посвященные разработке прогностических иммунологических критериев эффективности ГИБП при псориазе в детском возрасте. Все выполненные исследования представлены в полном объеме. Статистически значимые результаты отражены в рисунках и таблицах.

В главе «Обсуждение» Купцова Дарья Геннадьевна продемонстрировала способность к вдумчивому, критичному и глубокому сравнительному анализу собственных результатов исследования и данных современной научной литературы.

В главе «Заключение» изложено краткое обобщение полученных результатов. Выводы сформулированы и аргументированы согласно полученным результатам исследования.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Принципиальных замечаний по работе нет.

В качестве дискуссии позвольте предложить следующий вопрос. В работе, по существу, речь идет об определенных фенотипах псориаза у детей в разной степени устойчивых к генно-инженерным биологическим препаратам. Как бы Вы условно обозначили наиболее чувствительный и устойчивый фенотип?

Заключение

Диссертационная работа Купцовой Дарьи Геннадьевны на тему «Иммунологические критерии эффективности терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами в детском возрасте», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных научных задач, имеющих существенное значение для развития иммунологии и клинической лабораторной диагностики: установлено значительное вовлечение иммунной системы в патогенез псориаза у детей, расширяющее научное представление о заболевании; разработаны иммунологические лабораторные критерии оценки тяжести заболевания псориазом у детей и прогноза эффективности генно-инженерных биологических препаратов на основании информативных показателей клеточного иммунитета, метаболизма иммунных клеток, ферментов пуринергической регуляции, патогенетически значимых медиаторов воспаления и фактора транскрипции NF-κB.

Диссертация Купцовой Д.Г. полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября

2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №101 от 26.01.2023 г.), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Купцова Дарья Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинский наук по специальностям «3.2.7. Иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика».

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
ведущий научный сотрудник лаборатории
молекулярной биологии Научно-исследовательского
медицинского стоматологического института
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный медико-стоматологический
университет имени А. И. Евдокимова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Балмасова Ирина Петровна

Балмасова Ирина Петровна

Подпись д.м.н., профессора Балмасовой И.П. заверяю:

«19» 09 2023 года

Ученый секретарь ФГБОУ ВО МГМСУ
им. А. И. Евдокимова Минздрава России,
д.м.н., профессор



Васюк Юрий Александрович

Адрес: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 129110, г. Москва, ул. Делегатская д.20, стр.1, тел. +7 (495) 609-67-00, E-mail: msmsu@msmsu.ru