

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Фадеева Валентина Викторовича на диссертационную работу Дудиной Маргариты Андреевны на тему «Болезнь Грейвса: прогнозирование эффективности консервативного, хирургического лечения и радиойодтерапии на основе оценки механизмов нарушения иммунной толерантности», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.19.-Эндокринология (медицинские науки)

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Достижение иммунологической ремиссии болезни Грейвса является актуальной проблемой современной фундаментальной и клинической тиреологии.

Представляется важным проведение проспективного исследования по изучению состояния иммунной системы у пациентов с болезнью Грейвса в исходе различных методов лечения заболевания для выделения иммунологических маркеров, как в прогнозировании эффективности лечения, так и в качестве потенциальных мишеней иммунотропной терапии заболевания. В частности, содержание регуляторных Т-клеток и состояние их супрессорного дефекта на разных стадиях развития болезни Грейвса может определять длительную персистенцию аутоиммунного процесса и являться многообещающим подходом для будущих методов лечения заболевания.

Зная о возможном влиянии консервативной терапии тиамазолом и радионуклидного лечения на иммунный статус пациентов с болезнью Грейвса, актуальным является изучение уровня регуляторных Т-клеток в динамике после проведенного лечения, которые играют ведущую роль в инициации и прогрессировании заболевания.

Изучение функционально-метаболических показателей клеток иммунной системы представляется крайне важным для формирования представлений о механизмах рецидива заболевания.

В связи с этим, исследование Дудиной М.А. «Болезнь Грейвса: прогнозирование эффективности консервативного, хирургического лечения и радиойодтерапии на основе оценки механизмов нарушения иммунной толерантности», посвященное изучению закономерностей дисрегуляции иммунной системы и раскрытию потенциальных мишеней иммуотропной терапии болезни Грейвса, выполненное на российской популяции, вне всяких сомнений является актуальным.

### **Научная новизна и практическая значимость полученных результатов исследования, выводов и практических рекомендаций**

Впервые получены научные данные, позволяющие выделить субпопуляцию регуляторных Т-клеток не только в качестве возможного маркера иммунологической ремиссии заболевания перед завершением курса длительной консервативной терапии тиамазолом, но и как мишень для таргетной терапии регуляторного дефекта иммунной системы.

На основании проведенного проспективного исследования впервые установлены закономерности синтеза активных форм кислорода у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза, которые существенно дополняют иммунопатогенетическую концепцию адаптации нейтрофилов к системным изменениям тиреоидного статуса при консервативном лечении заболевания. Высокий системный уровень синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода у пациентов с болезнью Грейвса, на фоне поддерживающей дозы тиамазола раскрывает ограничения иммуномодулирующих эффектов антитиреоидных препаратов, определяя вектор патогенетического лечения заболевания.

По результатам проведенного исследования решена научная задача в определении потенциальных мишеней иммуотропной терапии и выделены три дефектные субпопуляции лимфоцитов крови, низкий уровень которых установлен, как исходно, так и через 6 месяцев после оперативного, и радионуклидного лечения: наивные ( $CD45R0^-CD62L^+$ ) и терминально-дифференцированные ( $CD45R0^-CD62L^-$ ) регуляторные Т-клетки, а также В-клетки памяти ( $CD19^+CD27^+$ ), определение которых существенно дополняет модель дефекта регуляторной функции иммунной системы при болезни Грейвса.

Разработан способ раннего прогнозирования рецидива при консервативном лечении тиамазолом у пациентов с впервые выявленной болезнью Грейвса, основанный на определении процентного числа активированных В1-лимфоцитов ( $CD19^+CD5^+CD23^+$ ) и Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ) крови, с последующим расчетом коэффициента В1-клеточной активации (В1КА):  $В1КА = \text{активированные В1-лимфоциты} / \text{Т-лимфоциты}$ , который позволяет определить целесообразность длительного консервативного лечения заболевания.

Впервые в Российской тиреологии разработан способ прогнозирования эффективности радионуклидного лечения у пациентов с болезнью Грейвса, основанный на определении процентного числа активированных Th-клеток ( $CD3^+CD4^+CD25^+$ ) и В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ) крови, с последующим расчетом коэффициента Т-хелперной регуляции (ТХР):  $ТХР = \text{активированные Т-хелперы} / \text{В-лимфоциты}$ , что позволяет оптимизировать протокол и исключает необходимость повторного курса радиойодтерапии.

В диссертационном исследовании решена научно-практическая проблема лечебной тактики и прогнозирования исходов различных методов лечения в дебюте болезни Грейвса. На основании проспективных исследований разработан способ персонифицированного подхода к выбору метода лечения при впервые выявленной болезни Грейвса, основанный на расчете коэффициента В-клеточной регуляции (ВКР):  $ВКР = \text{активированные В-}$

лимфоциты (CD19<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup>)/Treg (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD127<sup>Low</sup>CD25<sup>High</sup>), использование которого позволяет реализовать персонализированный алгоритм в выборе метода лечения в дебюте заболевания.

### **Научная обоснованность и достоверность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Степень достоверности полученных результатов исследования подтверждается достаточным объемом выборки и применением современных методов исследования. Методы аналитической и статистической обработки полученных результатов адекватны поставленным задачам.

Выводы, практические рекомендации и положения, выносимые на защиту, аргументированы и логически вытекают из анализа клинических данных, полученных при обследовании пациентов и результатов выполненных исследований.

Автором обоснованы цель и задачи исследования, сформулированы выводы и основные положения, выносимые на защиту.

В диссертации проведен полный анализ российских и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, представлены и первостепенные фундаментальные исследования по аутоиммунным тиреопатиям, на основании которых лично автором сформулирована научная гипотеза, выработана методология исследования.

Цели и задачи исследования сформулированы на основании исследовательской методологии.

Автором лично проведено лечение и динамическое наблюдение участников исследования, с последующим анализом полученных данных; выполнены все этапы статистической обработки и описание результатов исследования; подготовлены статьи, тезисы докладов, написаны диссертация и автореферат. Опубликованные работы, в том числе написанные в соавторстве,

представляют основные результаты диссертации и отражают личный вклад автора.

Качество выполненных исследований подтверждается публикацией основных результатов диссертации в 53 печатных работах, в том числе 13 статей в научных журналах и изданиях, включенных ВАК РФ, 9 публикаций в журналах, включенных в международную базу цитирования Scopus и 17 в зарубежной печати. Имеется три патента РФ на изобретение.

Результаты исследования доложены и обсуждены на всероссийских и международных конгрессах, и научных конференциях: Всероссийском эндокринологическом конгрессе с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии», Москва (2017); 19<sup>th</sup> European congress of Endocrinology, Лиссабон (2017), EYES meeting, Порто (2017); 11<sup>th</sup> International Congress on Autoimmunity, Лиссабон (2018); 20<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Барселона (2018); EYES meeting, Познань (2018); VIII Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение», Москва (2019); 21<sup>st</sup> European Congress of Endocrinology, Лион (2019), 22<sup>nd</sup> European Congress of Endocrinology, Прага (2020); IV Национальном конгрессе эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии», Москва (2021); 90<sup>th</sup> Thyroid Association virtual Annual Meeting (2021); 24<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Милан (2022).

Результаты исследования внедрены в практическую работу КГБУЗ «Краевая клиническая больница». Используются в учебном процессе, лекционном курсе и на практических занятиях для подготовки ординаторов, аспирантов, циклах повышения квалификации врачей-эндокринологов кафедры госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

## Оценка содержания диссертационной работы

Работа написана в классическом стиле. Материал изложен на 338 страницах машинописного текста, состоит из 6 глав и раздела по разработанному способу персонифицированного подхода к выбору метода лечения в дебюте болезни Грейвса. Диссертация иллюстрирована 22 рисунками и 43 таблицами

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и обсуждения их результатов, разделу по разработанному способу персонифицированного подхода к выбору метода лечения в дебюте болезни Грейвса, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и литературы.

Во введении представлена актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. В соответствии с необходимыми требованиями представлены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе (обзор литературы), полно отражающий современное состояние проблемы, как в России, так и в мире, содержит современные данные о начальных этапах апробации генно-инженерных биологических молекул для иммуностропного лечения болезни Грейвса. Четко обозначены нерешенные проблемы разработки современной таргетной терапии заболевания. Всего использовано 373 источника литературы, из которых 33 принадлежит российским авторам, 340 – иностранным, что позволило полностью отразить представление о состоянии проблемы в мире.

Во второй главе (материалы и методы исследования) автор подробно описал клинический материал, а также гормональные, иммунологические, хими- и биолюминесцентные методы исследования, используемые для достижения цели исследования. В этой главе автор всесторонне и исчерпывающе представил методологию исследования.

Третья глава посвящена изучению особенностей иммунологических показателей у пациентов с впервые выявленной болезнью Грейвса. Показано, что аутоантитела к рТТГ играют ключевую роль и являются иницирующими в развитии аутоиммунной реакции при болезни Грейвса, но проявление дефекта иммунорегуляции в дебюте заболевания определяется цитотоксическими антителами к ТПО. У пациентов с уровнем антител к ТПО  $>100$  мЕд/л повышено абсолютное и процентное число общей фракции лимфоцитов, абсолютное количество Т-клеток ( $CD3^+$ ), и абсолютное число цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ), а также процентное и абсолютное содержание В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ) в периферической крови, при отсутствии статистически значимых связей содержания антител к ТПО с иммунологическими показателями. У пациентов с уровнем антител к ТПО  $< 100$  мЕд/л, напротив, нарушения в системе иммунитета реализуются на уровне иммунотиреоидных взаимодействий с появлением в системе положительных корреляций титра антител к ТПО с относительным и абсолютным содержанием В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ), и отрицательных с процентным количеством Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ), лейко-В-клеточным коэффициентом, а также относительным синтезом IgM ( $IgM / CD19^+$ ).

Установлено, что при впервые выявленной болезни Грейвса значительно нарушена тиреоидная регуляция образования вторичных АФК в нейтрофилах крови, что отражается в появлении отрицательных связей уровня цитотоксических антител к ТПО с кинетическими параметрами люминол-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции ( $T_{max}$ ,  $I_{max}$ ). Выраженная активация обменных процессов в митохондриальном компартменте, за счет активации НАДН-ГДГ нейтрофилов, у пациентов с впервые выявленной болезнью Грейвса свидетельствует об активации компенсаторных механизмов ингибирования перекисного окисления липидов в гипертиреоидную фазу заболевания.

Четвертая глава содержит результаты собственных исследований по изучению иммуномодулирующих влияний консервативной терапии тиамазолом на клинико-иммунологические показатели при болезни Грейвса.

Установленные закономерности в изменении фенотипического состава Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса при стойком медикаментозном эутиреозе на фоне консервативной терапии свидетельствуют об иммуномодулирующих эффектах длительной терапии тиамазолом на систему адаптивного иммунитета и стимуляции регуляторного звена иммунной системы, направленной на супрессию аутоиммунного процесса. Однако, установленный повышенный титр антител к рТТГ, значительное увеличение уровня антител к ТПО, а также выявленные изменения в увеличении процентного числа активированных Th-клеток ( $CD3^+CD4^+CD25^+$ ) и цитотоксических Т-клеток ( $CD3^+CD8^+CD25^+$ ) у пациентов с болезнью Грейвса с длительностью медикаментозного эутиреоза более 12 месяцев, при увеличении количества Treg ( $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ ) в крови свидетельствуют о тяжелом регуляторном дефекте Treg и значительном снижении их функции.

Полученные результаты позволяют выделить субпопуляцию Treg ( $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ ) не только как мишень для этиотропной терапии регуляторного дефекта иммунной системы у пациентов с болезнью Грейвса, но и в качестве возможного маркера иммунологической ремиссии заболевания перед завершением курса длительной консервативной терапии тиамазолом.

Полученные результаты существенно дополнили арсенал науки сведениями об иммуномодулирующем эффекте длительной консервативной терапии тиамазолом на систему адаптивного иммунитета при болезни Грейвса.

Ценным, с практической точки зрения, представляется раздел, описывающий разработанный способ раннего и быстрого прогнозирования развития рецидива при планировании длительного консервативного лечения в дебюте болезни Грейвса.

Рассматривая выявленные негативные последствия накопления активных



форм кислорода в нейтрофилах пациентов с болезнью Грейвса в состоянии длительного медикаментозного эутиреоза при консервативной терапии тиамазолом автор приводит исчерпывающие и убедительные новые научные данные в отношении механизмов рецидивирующего течения заболевания и, соответственно, определения вектора для разработки иммуотропной терапии заболевания.

В пятой главе представлены результаты исследования по сравнительной оценке фенотипического состава Т- и В-клеток периферической крови и ткани щитовидной железы, а также функционально-метаболические показатели клеток иммунной системы у пациентов с болезнью Грейвса в динамике после оперативного лечения. На основе комплексных иммунологических методов исследования представлены новые доказательства в координации дефекта иммунорегуляции Treg периферической крови и ткани щитовидной железы. Впервые дана сравнительная характеристика фенотипического состава лимфоцитов периферической крови и органа-мишени, и доказано снижение содержания и функции Treg. Выявленные иммунологические механизмы свидетельствуют о наличии двух одновременно протекающих процессов: снижения количества и функции Treg и миграции активированных В-клеток памяти ( $CD19^+CD27^+CD23^+$ ) в ткань щитовидной железы.

Шестая глава отражает результаты обследования пациентов с болезнью Грейвса в динамике после радионуклидного лечения. Впервые показано, что радионуклидное лечение вызывает дополнительное снижение содержания общей фракции Treg ( $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ ), наивных ( $CD45R0^-CD62L^+$ ) и терминально-дифференцированных ( $CD45R0^-CD62L^-$ ) Treg, активированных фракций В1-, В2- и наивных активированных В-клеток ( $CD19^+CD27^-CD23^+$ ), а также уровня экспрессии активационного маркера CD23 на В2-клетках и наивных В-клетках, которое определяется через 6 месяцев после приема терапевтической активности  $^{131}I$ .

Следует подчеркнуть, что раздел по изучению уровня генерации активных форм кислорода у пациентов с болезнью Грейвса в исходе

двухнедельной отмены тиамазола перед радионуклидным лечением является особенно ценным, так как раскрывает дополнительные механизмы срыва иммунологической толерантности при развитии рецидива заболевания. Разработанный способ прогнозирования эффективности радионуклидного лечения у пациентов с болезнью Грейвса имеет большое практическое значение.

Раздел диссертационной работы по разработанному способу персонализированного подхода к выбору метода лечения в дебюте болезни Грейвса отражает выявленные механизмы прогрессирования аутоиммунного процесса у пациентов с болезнью Грейвса и решение научно-практической проблемы лечебной тактики, и прогнозирования исходов различных методов лечения в дебюте заболевания. На основании проспективных исследований разработан способ персонализированного подхода к выбору метода лечения при впервые выявленной болезни Грейвса, основанный на расчете коэффициента В-клеточной регуляции (ВКР):  $\text{ВКР} = \frac{\text{активированные В-лимфоциты (CD19}^+\text{CD23}^+)}{\text{Treg (CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD127}^{\text{Low}}\text{CD25}^{\text{High}})}$ , использование которого позволяет реализовать персонализированный алгоритм в выборе метода лечения в дебюте заболевания.

В заключении автор проводит обобщение полученных данных в разрезе современного состояния проблемы и ценности для науки, и практики. Раздел представляет фундаментальную и практическую значимость для специалистов, занимающихся ведением пациентов с болезнью Грейвса. Работа завершена четко сформулированными и логично вытекающими из полученных результатов выводами, содержание которых полностью отвечает поставленным задачам.

Практические рекомендации сформулированы понятно и отражают результаты работы. Список литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ.

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат оформлен в соответствии с необходимыми требованиями и полностью отражает основные положения и выводы, раскрывает решение поставленной научной задачи, в полном объеме отражает основные этапы работы и полученные результаты, изложенные в диссертации.

Анализ содержания автореферата позволяет утверждать, что диссертационное исследование Дудиной Маргариты Андреевны является самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой.

Исходя из положений, сформулированных в автореферате, можно заключить, что структура работы выстроена последовательно и логично. Автореферат диссертации содержит все необходимые разделы и характеризуется четкостью формулировок цели, задач и результатов.

Основные положения диссертации отражены в публикациях, тематика которых позволяет сделать заключение о том, что основные положения диссертационной работы были доступны научной общественности.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, выполнена в традиционной форме.

Диссертация и автореферат написаны хорошим литературным языком и заслуживают положительной оценки.

Недостатков принципиального характера в содержании, основных положениях и выводах диссертационной работы Дудиной Маргариты Андреевны нет.

В процессе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы:

1) С учетом новых полученных данных на Ваш взгляд, какова роль титра антител к рТТГ, как маркера прогнозирования рецидива и ремиссии болезни Грейвса в клинической практике?

2) В работе показано состояние супрессорного дефекта регуляторных Т-клеток у пациентов с болезнью Грейвса в динамике после оперативного и радионуклидного лечения. Выявленные изменения имеют однонаправленный характер или имеются различия у этих групп пациентов с учетом того, что все обследованные пациенты получали предварительное лечение тиамазолом?

Поставленные вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на научно-практическую ценность и положительную оценку диссертации.

### **Заключение**

Оценивая диссертационную работу в целом, следует отметить фундаментальный подход к проведению клинико-иммунологических исследований, всесторонний анализ полученных результатов, глубокое, комплексное понимание изучаемой проблемы, применение современных методов статистического анализа.

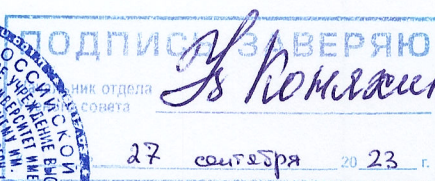
Таким образом, диссертация Дудиной М.А. на тему «Болезнь Грейвса: прогнозирование эффективности консервативного, хирургического лечения и радиоiodтерапии на основе оценки механизмов нарушения иммунной толерантности» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований и методологических разработок осуществлено решение научной проблемы прогнозирования эффективности различных методов лечения и выявления мишеней иммуноотропной терапии болезни Грейвса.

По своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, достоверности полученных результатов, теоретической и практической значимости диссертационная работа Дудиной М.А. полностью соответствует требованиям п.9 действующего «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (редакция от 21.04.2016 г. № 335, от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой

степени доктор наук, а ее автор Дудина Маргарита Андреевна заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.19-Эндокринология (медицинские науки).

Заведующий кафедрой эндокринологии №1  
Института клинической медицины  
им. Н.В. Склифосовского  
ФГАОУ ВО Первый Московский  
Государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет),  
член-корреспондент РАН,  
профессор, д.м.н.

Фадеев Валентин Викторович



Контактные данные:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова Минздрава России)

119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

e-mail: rektorat@staff.sechenov.ru

Телефон: 8(495)609-14-00