

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Намакановой Ольги Александровны
на тему: «Роль TNF и IL-6 в патогенезе аллергического воспаления и
фиброзе легких у мышей»
по специальности 3.2.7. Иммунология**

Бронхиальная астма в настоящее время – одно из наиболее распространенных хронических заболеваний. По данным ВОЗ в 2023 году во всем мире около 340 млн человек болеют астмой, и ежегодно около 500 тысяч человек умирают от этого заболевания. Немаловажно, что хроническое воспаление в легких часто провоцирует ремоделирование и фиброзирование легочной ткани, приводит к затруднению дыхания, базовой потребности человека, а значит к снижению качества жизни людей. Стоит также отметить, что астма крайне гетерогенное заболевание по этиологии, патогенезу, применяемым подходам к лечению и их эффективности. В частности, форма астмы, сопровождающаяся нейтрофильным воспалением, крайне трудно поддается базовым приемам терапии кортикостероидами или блокировкой цитокинов IL-5, IL-4 и IL-13. В связи с этим актуальность выбранной темы изучения и уточнения молекулярных механизмов вовлечения цитокинов TNF и IL-6 в патогенезе аллергического воспаления и фиброзе легких у мышей и влияние блокировки этих цитокинов на воспаление, не вызывает сомнений.

В настоящей работе предлагается исследование подхода двойной блокировки цитокинов IL-6 и TNF, как потенциальных терапевтических мишеней для лечения нейтрофильной астмы и фиброза легких. Примером двойной блокировки цитокинов в клинических исследованиях и клинике являются дупилумаб, блокирующий передачу сигналов от цитокинов IL-4 и IL-13 через IL-4Ra, и бимекизумаб, моноклональное АТ, взаимодействующее с общим домен молекул цитокинов IL-17A и IL-17F и следовательно ингибирующее оба цитокина. Таким образом, предлагаемые подходы двойной блокировки цитокинов основаны или на ингибировании сигнала от общего рецептора, или на связывании разных форм одного цитокина. В контексте этого

одновременная блокировка IL-6 и TNF, относящихся к разным семействам цитокинов – новый и смелый подход, заслуживающий внимания.

К несомненным плюсам работы относится сопоставление моно и двойной блокировки исследуемых цитокинов *in vivo* в различных моделях на мышах. Так, показано, что комбинированная фармакологическая блокировка TNF и IL-6 в модели HDM-индуцированной острой аллергической астмы приводит к снижению Th2/Th1/Th17-опосредованного иммунного ответа, и, в том числе, снижает эозинофильное и нейтрофильное воспаление. Важно отметить, что влияние блокировки цитокином IL-6 на возрастание цитокинового Th2-опосредованного ответа нивелируется за счет действия блока TNF. Вместе с тем, одновременная блокировка IL-6 и TNF приводит к более выраженному снижению Th1 и Th2 лимфоцитов. При этом, в случае оценки блокировки IL-6 и TNF на содержание IgE в бронхо-альвеолярном лаваже, показано, что именно блок TNF приводит к снижению IgE. Таким образом, блок цитокинов по отдельности в определенных случаях имеет уникальный эффект, а одновременное ингибирование имеет синергетический эффект по некоторым параметрам.

В работе также проведена оценка влияния комбинированной фармакологической блокировки TNF и IL-6 на ремоделирование дыхательных путей на фоне HDM-индуцированной тяжелой астмы. Установлено, что совместное действие ингибиторов приводит к снижению инфильтрации воспалительных клеток, уменьшению гиперплазии бокаловидных клеток в легких, снижению экспрессии гена *Tgfb*, что также может влиять на снижение выработки коллагена.

Следующим этапом исследования было изучение влияния комбинированной фармакологической блокировки TNF и IL-6 на прогрессирование LPS-индуцированного фиброза. Намакановой О.А. была доработана модель LPS-индуцируемого фиброза на мышах, что позволяет изучать не только острое течение заболевания, но и долгосрочные изменения,

характерные для хронического течения астмы. Тут стоит обратить внимание, что проблема фиброзирования легких характерна не только для длительного течения астмы, но и для других заболеваний, сопровождающихся продолжительным воспалением, в том числе туберкулёз, саркоидоз, короновирусная инфекция. Вместе с тем на сегодняшний день не существует универсальной модели для изучения механизмов фиброза легких на животных. Так, например, применяемая блеомициновая модель хорошо воспроизводит фиброзирование в острой фазе воспаления, но не подходит для хронического. В связи с этим разработка модели на мышах для изучения молекулярных механизмов, лежащих в основе образования фиброза при хроническом воспалении и возможностей его предотвращения или разрешения, очень важна. К плюсам проведенной работы также относится то, что проведена не только оценка патологии легочной ткани и степени воспаления, но и тесты на функциональную активность легких с помощью системы FlexiVent SCIREQ, поскольку возможность дышать является одним из ключевых и в конечном итоге самых важных параметров для жизни. В результате установлено, что TNF является медиатором острой фазы воспаления, а IL-6 важен на фибропролиферативной стадии формирования фиброза, если триггером воспаления в легких является LPS, и системное отсутствие IL-6 приводит более значительному образованию и отложению коллагена.

Еще одним достоинством работы является то, что проведено исследование влияния IL-6 на функции легких в двух крайних проявлениях – при системном дефиците IL-6 (мыши нокауты по гену *Il6*), а также при избыточной продукции человеческого IL-6 в Т-клетках CD4+. Это важное сопоставление, поскольку часто при исследовании необходимости того или иного цитокина исследователи останавливаются на проверке дефицита при выключении гена интересующего фактора. В данной работе также проведено исследование гиперэкспрессии IL-6, что также оказало негативное влияние на функциональную активность легких. Это свидетельствует о том, что для IL-6 существует некое промежуточное

оптимальное значение, при котором в меньшей степени откладываются коллагеновые волокна, но не развивается гипервоспаление.

Работа написана по традиционному плану, хорошим языком, полноценно проиллюстрирована, в том числе приведены схемы развития иммунного ответа при различных типах астмы и вовлечения исследуемых цитокинов IL-6 и TNF в патогенез астмы. В главе «Результаты» в рисунках также приведены схемы экспериментов, что в значительной степени облегчает восприятие описания проделанной работы. Исследования выполнены на самом высоком уровне, с использованием мышей с генетической делецией генов для IL-6 (IL-6 KO) и TNF (TNF KO), а также с сверхэкспрессией человеческого IL-6, описываемые результаты получены впервые, достоверность результатов подтверждается воспроизводимостью минимум в трех независимых экспериментах каждого типа и адекватным применением методов статистики. Вынесенные на защиту положения обоснованы, выводы соответствуют полученным результатам.

Несмотря на высокую оценку проведенной работы и полученных результатов у меня имеется ряд замечаний и вопросов.

1. Рис 16В – представлено сравнение фотографий гистологических препаратов легкого – 2 фото (контроль и 24ч после LPS) на одном увеличении и 1 фото (5 недель после LPS) на более крупном увеличении. На мой взгляд на корректнее приводить фотографии в одном увеличении, иначе это дает искаженное восприятие.
2. В некоторых местах есть несоответствие ссылок по смыслу. Например, на стр. 75 в предложении «В нескольких исследованиях введение ингибиторов TNF также продемонстрировало обнадеживающие результаты в экспериментальных моделях астмы [78]» дана ссылка на статью о роли тканевых резидентных клеток в рекрутинге нейтрофилов. Тем Kim N. D., Luster A. D. The role of tissue resident cells in neutrophil recruitment // Trends Immunol. – 2015. – Т. 36, № 9. – С. 547-55.

3. В разделе 3.1.3 сказано, что «нейтрализация TNF, по-видимому, способствует накоплению Th17-клеток в дыхательных путях», тогда как на рисунках 11Б и Г нет достоверной разницы по количеству клеток Th17 и по уровню экспрессии гена *Il17a* между контрольными образцами и с нейтрализацией TNF. Стоит внимательнее интерпретировать данные о влиянии параметра при сравнении не только с другими экспериментальными группами, но и с контролем.
4. При исследовании мышей со сверхэкспрессией IL-6 человека в Т-клетках CD4+ сделан вывод, что избыточная продукция IL-6 является ключевым фактором необратимого ремоделирования легких и сопутствующего ухудшения функционального состояния дыхательной системы. – Как сделан вывод о том, что именно IL-6 – это ключевой фактор? Оценивали ли влияние гиперэкспрессии других цитокинов? Возможно такая информация есть в литературе?
5. Образуется ли фиброз при HDM-индуцированной астме у мышей BALB/C? И если да, то через какое время?
6. Для исследования фиброза использовали модифицированную модель с индукцией LPS – насколько механизмы фиброобразования при такой индукции сходны с образованием фиброза при астме?
7. Рис. 22 – скопления лимфоцитов на снимке патологии легких напоминают В-клеточные фолликулы. Проводили ли иммуногистохимическое окрашивание, чтобы оценить, какие клетки в этих скоплениях?

Вместе с тем, указанные замечания не принципиальны и не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова.

Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Намаканова Ольга Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией иммуногенетики ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза»

Линге Ирина Андреевна

18 мая 2026 г.

Контактные данные:

тел.: _____, e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

3.2.7. – Иммунология

Адрес места работы:

107564, (Россия) г. Москва, Яузская аллея, д. 2,
ФГБНУ «ЦНИИТ», лаборатория иммуногенетики
Тел.: 8(499) 7859072; e-mail: cniit@ctri.ru

Подпись сотрудника ФГБНУ «ЦНИИТ» Линге И. А.
удостоверяю:

Ученый секретарь, к.п.н.

Золотова Н. В.

18 мая 2026 г.