

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Рубцова Юрия Петровича**

««Клеточные и молекулярные механизмы контроля лимфопролиферации и аутоиммунитета»», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.01.03 – молекулярная биология и 03.03.03 - иммунология

Представленная работа Рубцова Ю.П. затрагивает фундаментальные аспекты молекулярной иммунологии, а именно, клеточные и молекулярные механизмы поддержания иммунологической толерантности, которые необходимы для предотвращения развития спонтанных аутоиммунных заболеваний, которые характеризуются избыточной лимфопролиферацией и поражением иммунной системой организма собственных тканей и органов. К этим заболеваниям относятся системные патологии, такие как ревматоидный артрит (РА) и системная красная волчанка, либо орган-специфические, такие как диабет 1 типа, рассеянный склероз, болезнь Крона. Сразу несколько исследований и идей, представленных в работе Рубцова Ю.П., имеют непосредственную практическую ценность: это оценка состояния регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) крови у пациентов с ранним ревматоидным артритом; предложение использовать для диагностики состояния пациентов с РА иммунофенотипирование Treg крови, которое также можно использовать для прогностического анализа ответа пациентов на терапию метотрексатом; а также идентификация молекулы клеточной адгезии ICAM-1 как одного из ключевых медиаторов иммуносупрессорного действия мезенхимных стромальных клеток на тканевые лимфоциты. Таким образом, проведенная работа имеет непосредственное практическое значение.

Однако наиболее важной линией исследования иммунологической толерантности в работе Рубцова Ю.П. представляются эксперименты с использованием генетически модифицированных животных новых линий, которые были впервые получены автором. Трансгенные мыши новых линий с изменениями в нетранслируемой части гена фактора транскрипции Foxp3, который критически важен для дифференцировки, созревания, а также осуществления иммуносупрессорных функций Treg, позволили автору получить впечатляющий и разнообразный набор данных, касающихся определения стабильности популяции Treg мыши в нормальных условиях, при разных видах лимфопролиферации и при ответе на инфекции. Применение системы сайт-специфической рекомбинации *LoxP/Cre* к гену, кодирующему один из важнейших иммуносупрессорных цитокинов интерлейкин-10 (IL-10), позволило ответить на ряд вопросов о роли этого цитокина в поддержании иммунологической толерантности. Впервые было убедительно доказано, что

IL-10, секретлируемый Treg, не участвует в поддержании системной толерантности, а важен для контроля воспаления в кишечнике, легких и коже. Аналогичный подход, примененный к гену, кодирующему фактор транскрипции Foxp1, позволил существенно продвинуть понимание роли этого белка в физиологии самих Treg. Все эти результаты, полученные Рубцовым Ю.П., имеют высокую фундаментальную ценность, а статьи, в которых они изложены, уже вошли в золотой фонд современной молекулярной иммунологии.

Работа построена по классическому принципу и включает в себя разделы «Введение», «Литературный обзор», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы». Диссертация изложена на 211 страницах, содержит 62 рисунка и 4 таблицы. Литературный обзор очень объемный и содержит более 70 страниц текста с 20 рисунками, список литературы содержит 421 источник. Автореферат содержит информацию о 21 статье по теме диссертации, опубликованных в 11 англоязычных и 10 русскоязычных рецензируемых журналах.

Основная часть работы Рубцова Ю.П., по сути, представляет собой изложение содержания ключевых статей, и проиллюстрирована в основном рисунками из них, поэтому анализ данной диссертации по существу хотелось бы начать как раз со списка публикаций. В нем ярко выделяются 2 статьи из лаборатории А.Ю. Руденского в Immunity 2008 и в Science 2010, обе - с первым авторством диссертанта. В этих работах выдающимися являются и сами опубликовавшие их журналы, и количество цитирований (многие сотни), и уровень поставленных вопросов и полученных ответов, и объем и качество полученных данных. Остальные статьи из лаборатории Руденского также сами по себе очень хороши, но статья в NRI 2007 - обзор, а вклад Рубцова Ю.П. в статьи JEM 2007, Nature 2008 и NI 2019 - намного скромнее, что отражено в его положении в списке авторов. Отдельно следует обратить внимание на статью 2019 года по Foxp1. Этой масштабной и технически сложной работе посвящено почти 30% объема раздела «Результаты и обсуждение», при этом авторский вклад Рубцова Ю.П. в работу, как следует из соответствующего раздела статьи, заключался лишь в создании Foxp1 "флоксированных" мышей. Несомненно, это ключевой инструмент, без которого весь проект был бы невозможен, и это делает Рубцова Ю.П. полноправным соавтором всех изложенных в статье результатов. Однако в контексте диссертации вряд ли было целесообразно пересказывать Foxp1 статью целиком. Достаточно было бы лаконичного изложения основных положений статьи, от этого диссертация только выиграла бы.

Переходя к обзору литературы, следует с удивлением отметить, что Foxp1 в нем не упоминается вовсе, но зато есть солидный раздел, посвященный микро-РНК, о которых не идет речь более нигде. В основном обзор литературы посвящен Treg и Foxp3, детально

проработан, хорошо написан и проиллюстрирован, но указанные диспропорции вызывают недоумение. Объем обзора литературы составляет около 60 страниц.

Раздел "Материалы и методы" занимает около 20 страниц, а "Результаты и обсуждение" - около 80. Вместе эти два раздела представляют собой, по сути, пересказ отдельных статей. В частности, материалы и методы структурированы не по методическим группам, а по проектам, в качестве иллюстраций к разделу "Результаты и обсуждение" использованы рисунки из журнальных статей в оригинальном немодифицированном виде, в том числе с английскими, мелкими и нечитаемыми надписями. Своя логика и удобство в том, чтобы рассматривать выполненные проекты последовательно, есть, однако не оставляет ощущение, что временами не хватает более интегрированного изложения в свободном стиле, а также более лаконичных и понятных иллюстраций. Как указано выше, части, соответствующие статье 2019 года о Foxp1, следовало бы радикально сократить. В частности, технически сложное описание биоинформатического анализа из этой статьи занимает 5 страниц текста, понятного лишь специалистам. Понять, каким образом сделанная с геном Foxp1 манипуляция позволило узнать что-то новое о гене Foxp3, эта информация совершенно не помогает.

В целом, создается впечатление, что автор не предпринял достаточных усилий для того, чтобы уйти от механического пересказа содержания статей (по крайней мере, иностранных) на основании перевода их текстов с английского. Отсутствие заметных усилий по улучшению рисунков также несколько портит впечатление. Ничто из этого не мешает существенным образом восприятию материала, однако не возникает и ощущение праздника, которым должна стать защита диссертации, основанной на столь выдающихся публикациях. Есть и различного рода оформительские недочеты: так, doi статьи номер 2 в автореферате оборван; а последовательности праймеров для ПЦР из дополнительного материала не загружаются по адресу <https://doi.org/10.1155/2017/6516854>, который указан в диссертации.

Возвращаясь к анализу работы по существу, следует положительно оценить развитие работ Рубцова Ю.П. в области иммунологической толерантности после возвращения из лаборатории А.Ю. Руденского. Следует, однако отметить, что уровень этих работ и публикаций по ним пока не дотягивает до уровня работ Руденского. В частности, это касается работ по МСК, которые проводились лишь на клетках, а не в контексте целого организма. В связи с этим, хотелось бы узнать мнение диссертанта о том, какие мышинные модели можно было бы разработать или применить для исследования иммуносупрессорного действия МСК на лимфоциты? Может быть, такие разработки уже ведутся?

Указанные недоработки следует воспринимать как рекомендации, они не влияют на актуальность и достоверность полученных результатов и сделанных выводов. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а сама диссертация полностью отражена в научных статьях, опубликованных автором в ведущих российских и зарубежных журналах, результаты работы доложены на отечественных и международных конференциях.

Диссертация Рубцова Ю.П. «Клеточные и молекулярные механизмы контроля лимфопролиферации и аутоиммунитета» полностью отвечает требованиям "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Рубцов Юрий Петрович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 03.01.03 – молекулярная биология и 03.03.03 - иммунология.

Официальный оппонент:

Руководитель Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук  
д.б.н., чл.-корр. РАН, профессор

Купраш Дмитрий Владимирович

ГСП-1, 119991, г. Москва, ул.  
Вавилова, д. 32  
Тел: +7-499-135-23-11  
E-mail: kuprash@gmail.com

Подпись Купраша Дмитрия Владимировича заверяю

Ученый секретарь ФГБУН ИМБ им. В.А.Энгельгардта РАН  
канд. ветеринар. наук Бочаров А.А.

Дата:

20.01.2021

