

"УТВЕРЖДАЮ"

Первый проректор – проректор
по научной работе РУДН,
доктор медицинских наук,
профессор, член-корр. РАН



А.А. Костин

24.09.2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» о диссертационной работе С.В. Гурьяновой «Механизмы регуляции иммунного гомеостаза биорегуляторами бактериального происхождения» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Диссертация «Механизмы регуляции иммунного гомеостаза биорегуляторами бактериального происхождения» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология выполнена в Медицинском институте Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (далее – ФГАОУ ВО «РУДН»).

В период подготовки диссертации соискатель Гурьянова Светлана Владимировна работала в Медицинском институте ФГАОУ ВО РУДН в должности доцента.

В 1987 году она окончила «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (МГУ), биологический факультет по специальности «Биохимия», присвоена квалификация «биолог».

Гурьянова С.В. защитила диссертацию «Исследование иммуномодулирующих свойств синтетических бактериальных гликопептидов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 - молекулярная биология в Институте биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН 06.10.1993 года, диплом кандидата наук КД № 084790 был выдан 3 декабря 1993 г.

Научный консультант:

– Колесникова Наталья Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар).

По результатам рассмотрения диссертации принято следующее **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Оценка выполненной работы. В диссертации к.б.н. Гурьяновой С.В. содержатся новые научно-обоснованные результаты в области иммунорегуляции. Диссертация является актуальной законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой автором проведен анализ механизмов регуляции иммунной системы биорегуляторами бактериального происхождения в норме и в патогенезе воспалительных заболеваний. В диссертации решены поставленные цель и задачи, работа обладает внутренним единством, что подтверждается наличием разработанного плана исследований и взаимосвязи результатов и выводов.

Личное участие соискателя в получении научных результатов. Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования: формирование основной идеи, формулировка рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, разработка дизайна исследования, анализ современной зарубежной и отечественной литературы

по изучаемой проблеме, проведение всех экспериментальных методов исследования, подготовка публикаций по теме выполненной работы.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Проверка первичной документации проведена комиссией в составе зав. кафедрой иммунологии, д.м.н. Елисютина О.Г., профессора кафедры дерматовенерологии, аллергологии и косметологии д.м.н. Уджуху В.Ю., д.м.н., доцента кафедры иммунологии к.б.н. Игнатъевой О.А. Первичная документация соответствует материалам исследования, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Составлен акт проверки достоверности первичной документации от 27.09.2023 г.

Эксперименты проведены по стандартизованным методикам, на откалиброванном и сертифицированном оборудовании. В работе использованы современные высокотехнологичные методы анализа, в том числе с применением проточной цитометрии, ПЦР-РВ, ИФА, гистологического анализа, мультиплексной технологии, а также ряда других методов молекулярной и клеточной иммунологии. Показана воспроизводимость результатов исследований. Все представленные в работе результаты основаны на анализе собранного в ходе исследования экспериментального материала. Используются адекватные современные методы сбора и статистической обработки экспериментальных данных.

Актуальность исследования.

Объектом исследования являлись биорегуляторы бактериального происхождения: мурамилпептиды, липополисахарид - компоненты клеточной стенки бактерий, а также бактериоцин низин - антимикробный пептид, широко используемый как консервант в пищевых продуктах. Анализ научных публикаций за последние 10 лет показал существенный рост интереса к биорегуляторам бактериального происхождения (ББП) в области прикладных исследований биологии и медицины, поскольку данные соединения обладают целым рядом биологических активностей, в том числе антимикробной и иммунорегуляторной.

Показано, что мурамилпептиды (МПП), липополисахарид и бактериоцин низин активизируют иммунную защиту против бактериальных, вирусных, грибковых и паразитарных заболеваний, активизируют противоопухолевую защиту, могут влиять на течение аллергических процессов. Несмотря на широкий спектр биологических эффектов биорегуляторов бактериального происхождения, механизм, посредством которого усиливается или ослабляется интенсивность и характер иммунного реагирования, не описан. Кроме того, остаются неясными вопросы о механизмах запуска разнонаправленных процессов – активации и ослабления воспалительных реакций. Следует отметить, что важным представляется изучение как механизмов активации иммунного ответа, имеющих решающее значение для адекватного иммунного ответа при угнетении иммунной системы, так и механизмов ограничения воспалительных реакций, которые в случае дефицита негативных регуляторных механизмов могут приводить к гиперреактивности и сопутствующим негативным последствиям.

Диссертация является актуальным и важным исследованием, поскольку её результаты могут стать основой для разработки новых подходов к терапии и профилактике заболеваний, вызванных неадекватным реагированием иммунной системы на стрессорные факторы.

Научная новизна. Результаты диссертационной работы обладают несомненной новизной.

На модели аллергического воспаления впервые показано, что продолжительное воздействие низких доз биорегуляторов бактериального происхождения (глюкозаминилмурамилдипептида и липополисахарида) до воздействия аллергена (овальбумина - OVA) проявляет защитный эффект, а совместное воздействие аллергена с липополисахаридом или мурамилпептидом осложняет тяжесть аллергического воспаления.

Впервые показана возможность смещения баланса субпопуляций дендритных клеток с помощью липополисахарида, мурамилпептида и норадреналина и охарактеризованы фенотипические изменения дендритных клеток под действием липополисахарида и мурамилпептида, а также бактериоцина низина.

Впервые обнаружено влияние глюкозаминилмурамилдипептида на

увеличение разнообразия представителей микробиологического сообщества слизистых полости рта в норме и при кариесе.

Впервые определен механизм эффективности глюкозаминилмурамилдипептида при монотерапии псориаза в период ремиссии.

Впервые показан механизм влияния глюкозаминилмурамилдипептида в предотвращении тяжелого течения острого респираторного заболевания посредством его воздействия на увеличение функциональной активности эффекторных клеток врожденного иммунитета.

Впервые обнаружена способность норадреналина уменьшать индуцированный липополисахаридом или мурамилпептидом повышенный уровень нейтрофильных пептидов HNP1-3 человека.

Впервые предложен комплексный подход контроля биорегуляторами бактериального происхождения иммунного гомеостаза посредством модулирования интенсивности экспрессии рецепторов врожденного иммунитета генов *TLR4* и *NOD2* с отложенной по времени негативной регуляцией на основе увеличения экспрессии генов *A20* и *ATF3*, продукты которых ограничивают воспаление.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы состоит в анализе биологических эффектов мурамилпептидов и липополисахарида, в том числе провоспалительного, противовоспалительного эффектов в экспериментальной модели бронхиальной астмы, при профилактике сезонных заболеваний в неблагоприятный эпидемиологический период COVID-19, терапии мурамилпептидом псориаза, а также оценке влияния на представителей микробиологического сообщества слизистой полости рта в норме и при патологии, влияния их и бактериоцина низина при воздействии катехоламинов (адреналина и норадреналина на иммунокомпетентные клетки.

При исследовании получены новые знания о механизмах, ответственных за усиление и подавление воспалительного ответа, способности мурамилпептидов и липополисахарида влиять на клеточные и гуморальные факторы биологических жидкостей, на экспрессию генов хемокинов, цитокинов, ростовых факторов, рецепторов и иммуноглобулинов,

участвующих в процессах воспаления, реализации врожденного и приобретенного иммунитета. Анализ эффектов мурамилпептидов и липополисахарида в модели OVA-индуцированной астмы у мышей *in vivo* показал разнонаправленность их действия: введение перед сенсibilизацией снижает выраженность воспалительного ответа на уровне гуморальных и клеточных факторов, а совместное их введение с аллергеном (OVA) значительно увеличивает интенсивность воспаления.

Анализ изменения уровня экспрессии генов, вовлеченных в процессы активации и торможения воспалительных процессов, показал на начальном этапе воздействия мурамилпептидов и липополисахарида увеличение экспрессии *TLR4*, *NOD2* и *TNF- α* , способствующее усилению воспалительных реакций, и увеличение экспрессии генов цитозольных белков, контролирующих воспаление (*A20* и *ATF3*), с задержкой по времени и подавление воспалительных реакций, вызванных мурамилпептидом и липополисахаридом.

Анализ влияния глюкозаминилмурамилдипептид-кислоты (ГМДП-ОН) на экспрессию генов, ответственных за синтез цитокинов, мембранных рецепторов и адаптерных белков, регулирующих клеточный метаболизм в НК-клетках здоровых доноров, в условиях *in vitro* выявил способность мурамилпептида влиять на различные этапы фосфорилирования MAPK, гидролиз фосфолипидов, экспрессию адаптерных белков и рецепторов, ответственных за связывание с иммуноглобулинами и цитокинами, интегрируя внешние и внутренние клеточные сигналы, НК-клеток путем преимущественного усиления экспрессии ряда генов функционально значимых белков.

При изучении структурно-функциональных особенностей в ряду мурамилпептидов установлено, что D-конфигурация изоглутамина является принципиальной для реализации регуляторной активности мурамилпептида: ГМДП-LL с L-конфигурацией изоглутамина не влияет на выработку оксида азота (NO), а также цитокинов, хемокинов и ростовых факторов.

В диссертационной работе предложена гипотеза о возможности контроля биорегуляторами бактериального происхождения характера и интенсивности воспалительного процесса на основе влияния длительности их применения посредством изменения состава субпопуляций

иммунокомпетентных клеток, хемокинов, ростовых факторов и цитокинов, а также влияния на экспрессию генов рецепторов врожденного иммунитета и транскрипционных факторов, участвующих в ослаблении воспалительного реагирования.

Важное фундаментальное значение работы заключается в описании и обосновании механизмов биологической активности ББП, определении механизма отрицательной обратной связи в воспалительном процессе, при котором на начальном этапе последовательно активируются транскрипционные факторы, индуцирующие воспаление, а на последующих этапах запускаются транскрипционные факторы, инициирующие каскады реакций, приводящих в норме к элиминации воспаления.

Полученные данные позволили существенно приблизиться к пониманию и обоснованию механизма ряда биологических эффектов мурамилпептидов, липополисахарида и низина, в том числе противовоспалительного.

Практическая значимость работы заключается в том, что показанные молекулярные и клеточные механизмы воздействия биорегуляторов бактериального происхождения могут послужить основой для разработки новых стратегий профилактики и терапии социально значимых инфекционных и аллергических заболеваний. Кроме того, получены данные о биологической активности мурамилпептида, разрешенного к клиническому применению при профилактике и терапии социально значимых заболеваний.

Практическую значимость представляют также новые данные о влиянии ЛПС, ГМДП и норадреналина в системе на изменение количества дендритных клеток, экспрессирующих CD11c, а также способности ЛПС, ГМДП изменять уровни альфа-дефенсинов нейтрофилов человека HNP.

Ценность научных работ соискателя. Ценность научных работ Гурьяновой С.В. заключается в том, что они используются в научной деятельности ученых, занимающихся проблемами изучения разнообразных биологических эффектов (мурамилпептидов, липополисахарида и бактериоцина низина) в определении значения бактериальных биорегуляторов в поддержании иммунного гомеостаза, а также в аллергических и других иммунопатологических процессах. Общее число

цитирований ее публикаций в РИНЦ – 785, индекс Хирша – 15; в международной базе данных Scopus – 496, индекс Хирша – 15.

Специальность, которой соответствует диссертация. Тема диссертационной работы полностью соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (п. 2. Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и патологии; п. 3. Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, паразитарной иммунной защиты; п. 6. Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов).

Связь темы диссертации с планами Медицинского института ФГБОУ ВО «РУДН». Диссертационная работа Гурьяновой С.В. выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ, проводимых в Медицинском институте ФГБОУ ВО «РУДН» по теме «Изучение механизмов врожденного и приобретенного иммунитета в норме и патологии». Тема диссертационного исследования была утверждена на заседании Ученого совета Медицинского института РУДН 19 сентября 2019 г., протокол № 1.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. По материалам диссертационного исследования опубликованы 41 научная работа, в том числе 25 - в изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science, Scopus и RSCI и/или включенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Основное содержание публикаций полностью раскрывает результаты исследования.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Guryanova, S.V. Inflammation Regulation by Bacterial Molecular Patterns / S.V. Guryanova, A. Kataeva // Biomedicines. 2023. Jan; 11(1): 183
2. Guryanova, S.V. Immunomodulation, Bioavailability and Safety of Bacteriocins / S.V. Guryanova // Life. 2023. 13 (7), 1521;
3. Guryanova, S.V. Mechanisms of regulation allergic and autoimmune reactions by bacterial origin bioregulators / S.V. Guryanova, I.A. Sigmatulin,

O.O. Gigani, S.A. Lipkina // RUDN journal of medicine (Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина). 2023. Vol. 27, № 4. P. 470–482.

4. Guryanova, S.V. Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine / S.V. Guryanova, A.S. Ferberg, I.A. Sigmatulin // RUDN journal of medicine (Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина). 2023. Vol. 27, № 3. P. 329-341.

5. Guryanova, S.V. Regulation of Immune Homeostasis via Muramyl Peptides-Low Molecular Weight Bioregulators of Bacterial Origin / S.V. Guryanova // Microorganisms. - 2022. - № 10. - P. 1526.

6. Guryanova, S.V. Dual Effect of Low Molecular Weight Bioregulators of Bacterial Origin in Experimental Model of Asthma / S.V. Guryanova, O.B. Gigani, G.O. Gudima, A.M. Kataeva, N.V. Kolesnikova // Life (Basel). 2022. Jan. 27; 12(2): 192.

7. Guryanova, S.V. Immunomodulatory and Allergenic Properties of Antimicrobial Peptides / S.V. Guryanova, T.V. Ovchinnikova // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Feb 24; 23 (5): 2499.

8. Guryanova, S.V. Innate Immunity Mechanisms in Marine Multicellular Organisms / S.V. Guryanova, T.V. Ovchinnikova // Marine Drugs. 2022. № 20 (9). <https://doi.org/10.3390/md20090549>.

9. Guryanova, S.V. How Do Pollen Allergens Sensitize? / S.V. Guryanova, E.I. Finkina, D.N. Melnikova, I.V. Bogdanov, B. Bohle, T.V. Ovchinnikova // Frontiers in Molecular Biosciences. 2022. № 9. 900533.

10. Guryanova, S.V. Novel approaches to increase resistance to acute respiratory infections / S.V. Guryanova, N.A. Kudryashova, A.A. Kataeva, B.T. Orozbekova, N.V. Kolesnikova, A.G. Chuchalin // RUDN journal of medicine (Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина). 2021. T. 25, № 3. С. 181—195.

11. Гурьянова, С.В. Динамика иммунологических и микробиологических показателей ротовой жидкости при терапии кариеса / С.В. Гурьянова, Н.В. Колесникова, Г.О. Гудима и др. // Иммунология. – 2021. - № 42(4). - С. 386–394.

12. Guryanova, S.V. Strategies for Using Muramyl Peptides - Modulators

of Innate Immunity of Bacterial Origin - in Medicine / S.V. Guryanova, R.M. Khaitov // *Frontiers in Immunology*. 2021. № 12. 607178. doi: 10.3389/fimmu.2021.607178.

13. Гурьянова, С.В. Глюкозаминилмурамилдипептид в терапии и профилактике инфекционных заболеваний / С.В. Гурьянова, Р.М. Хаитов // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020. Т. 9, № 3. С. 79–86.

14. Гурьянова, С.В. Глюкозаминилмурамилдипептид – ГМДП: воздействие на мукозальный иммунитет (к вопросу иммунотерапии и иммунопрофилактики) / С.В. Гурьянова, Р.М. Хаитов // *Иммунология*. 2020. № 41 (2). С. 174-183.

15. Guryanova, S. Pathogenetic Therapy of Psoriasis by Muramyl Peptide / S. Guryanova, V. Udzhukhu, A. Kubylnsky // *Frontiers in Immunology*. 2019. № 10. 1275.

16. Гурьянова, С.В. Клинико-иммунологическая эффективность и перспективы использования мурамилдипептидов в лечении atopических заболеваний / Н.В. Колесникова, И.Г. Козлов, С.В. Гурьянова, Е.А. Коков, Т.М. Андропова // *Медицинская иммунология*. 2016. Т.18, № 1. С. 15-20.

Рекомендация к защите. С учетом общего уровня теоретической и профессиональной подготовки, научной зрелости соискателя, необходимо сделать вывод о том, что Гурьянова Светлана Владимировна является высококвалифицированным научным работником.

Диссертационная работа «Механизмы регуляции иммунного гомеостаза биорегуляторами бактериального происхождения» Гурьяновой С.В. – самостоятельно выполненное законченное научное исследование, в котором решена проблема, имеющая существенное значение для специальности 3.2.7. Иммунология, биологические науки, а именно, раскрыты механизмы регуляции иммунного гомеостаза биорегуляторами бактериального происхождения и на основании полученных результатов установлено разнонаправленное влияние бактериальных биорегуляторов на воспалительные реакции, раскрыт механизм, приводящий к ослаблению воспаления, показано влияние мурамилпептида на изменение микробиоценоза ротовой полости, получены новые данные о

фенотипических изменениях дендритных клеток, а также изменении сигнальных путей в натуральных киллерах и нейтрофильных гранулоцитах.

Работа по своей научной новизне, теоретической и практической значимости, объему исследований и качеству анализа полученных результатов соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415).

Диссертация Гурьяновой СВ. «Механизмы регуляции иммунного гомеостаза биорегуляторами бактериального происхождения» рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Заключение принято на расширенном заседании кафедры иммунологии Медицинского института ФГАОУ ВО «РУДН». Присутствовало на заседании 11 чел., в том числе 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, 3 кандидата наук. Результаты голосования: «за» – 11 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 6 от 22 июня 2023 г.

Председательствующий на заседании:
Заведующая кафедрой иммунологии,
доктор медицинских наук, профессор



О.Г. Елисютина

Подпись д.м.н., проф. Елисютиной О.Г.
ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь Ученого совета
Медицинского института ФГАОУ ВО «РУДН»
Кандидат фармацевтических наук, доцент



Т.В. Максимова