

ОТЗЫВ

Официального оппонента доктора биологических наук Ирины Александровны Пашниной на диссертацию Ксении Юрьевны Шардиной на тему «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» по специальности: 3.2.7. Иммунология на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Актуальность темы исследования. Современная иммунология интенсивно развивается, открывая все новые субпопуляции клеток. Так, относительно недавно стали выделять отдельную группу клеток, выполняющих иммуносупрессорную функцию. Известно, что на уровне адаптивного иммунитета эту функцию выполняют Т-регуляторные клетки. Долгое время тема о возможности существования супрессорных клеток врожденного иммунитета была дискуссионной.

За последние 15 лет такая субпопуляция была выделена и получила название «миелоидные супрессорные клетки» (MDSC), в русскоязычной литературе миелоидные супрессоры (МС). Как и в случае с регуляторными Т-клетками, молекулярные маркеры MDSC стали очевидны не сразу, эта информация до сих пор дополняется. Однако в настоящее время фенотип $CD33^+ CD11b^+ HLA-DR^-$ закреплен за этими клетками, а дополнительные маркеры позволяют разделить MDSC по происхождению (миелоидные и полиморфнонуклеарные). Поскольку эти клетки ассоциированы с патологическими процессами и особыми состояниями (беременность, старение), то в норме у здорового человека их уровень крайне низок. Именно поэтому культивирование этих клеток является непростой методической задачей. Это определяет актуальность данной работы.

Известно, что уровень MDSC возрастает при беременности, и это логично, так как необходимо подавлять иммунный ответ на патернальные антигены. В данной диссертационной работе рассматривается вопрос о том,

как фетоплацентарные белки регулируют развитие и функции этих клеток в модели *in vitro*. Таким образом, актуальность работы очевидна, и определяется как фундаментальным аспектом исследования, так и прикладным.

Необходимо принять во внимание, что один из изучаемых белков, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) применяется в качестве фармакологического препарата, остальные белки (альфафетопротеин - АФП, гликоделин - ГД) также находятся на начальном этапе кандидатов-препаратов, именно поэтому важно понимать, как эти белки регулируют активность MDSC. Более того, в ряде исследований MDSC рассматриваются как мишень для воздействия препаратов, прежде всего, конъюгированного с токсинами.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных положений определяется корректным планированием и проведением исследования, достаточной для тонких культуральных исследований выборкой, использованием современных лабораторных методов и программного обеспечения. Результаты исследования дополняют данные, описанные в отечественных и зарубежных публикациях. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, логически обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Достоверность и новизна полученных результатов. Достоверность научных результатов, полученных в ходе исследования, обоснованность выводов и рекомендаций определяются необходимым числом наблюдений и объемом актуальных методов исследований, проведенных с использованием современных статистических программ.

Ксенией Юрьевной впервые показано, что фетоплацентарные белки регулируют дифференцировку и функциональную активность MDSC. В диссертационной работе установлено, что АФП, ГД и ХГЧ регулируют

уровень M-MDSC, а также продукцию этими клетками цитокинов и ферментов - ИДО и аргиназы 1.

В рамках диссертационного исследования разработаны две схемы генерации миелоидных супрессорных клеток, благодаря которым стало возможным изучение роли фетопланцентарных белков в модуляции их активности.

Значимость для науки и практики результатов диссертации. Соискателем было проведено исследование по изучению влияния альфа-фетопротейна, гликоделина и хорионического гонадотропина человека на дифференцировку и функциональную активность MDSC. Получены данные, касающиеся влияния фетоплацентарных белков на фенотип MDSC, на экспрессию ферментов - индоламин-2,3-диоксигеназы и аргиназы 1 и продукцию цитокинов клеточной культурой.

В диссертации расширено представление о важности MDSC в формировании иммунной толерантности под воздействием белков беременности. Полученные данные можно использовать в концепции иммунной толерантности при беременности. Ксения Юрьевна разработала две модели генерации MDSC из нормальных клеток здоровых доноров, что гипотетически позволяет тестировать вещества-кандидаты как для стимуляции этих клеток, так и для их подавления.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК – 6 статей, индексируемых в МБД- WoS и Scopus – 7, РИНЦ-2.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа изложена на 137 страницах машинописного текста и включает в себя разделы: «Введение», главы 1,2 – «Обзор литературы», главы 3,4 - «Материалы и методы исследования», главы 5,6,7 - «Результаты собственных исследований», заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы, включающий 190 источников. Работа

проиллюстрирована 14 рисунками и 5 таблицами. Работа также дополнена тремя приложениями.

В разделе «Введение» обоснована актуальность диссертационной работы, установлены цели и задачи исследования, положения, выносимые на защиту. Изложена научная новизна, теоретическая и практическая значимость, информация о внедрении результатов исследования в практику, описан личный вклад автора.

В главе 1 «Обзор литературы» представлены данные, описывающие миелоидные супрессорные клетки, их фенотип, характеристика, супрессорные механизмы, а также роль этих клеток в период беременности. Автор проанализировал роль MDSC в процессе развития нормальной беременности, а также при различных патологиях. Затронут исторический аспект открытия роли этих клеток во время беременности. Стоит отметить наглядность авторских иллюстраций, облегчающих понимание темы. В главе 2 описаны имеющиеся данные об изучаемых фетоплацентарных белках, в контексте их иммуномодулирующей активности.

Главы 3 и 4 «Материалы и методы исследования» содержат информацию о дизайне исследования, группах сравнения, фетоплацентарных белках, выполненных лабораторных исследованиях и статистических методах обработки данных. Глава хорошо проиллюстрирована, схемы индукции MDSC описаны подробно, показана тактика гейтирования клеток.

Главы 5,6,7 посвящены результатам собственных исследований. В данном разделе детально описаны полученные данные. Информация представлена в виде таблиц и рисунков, что облегчает восприятие. Описана исследовательская логика получения MDSC из CD33⁺ - и CD11b⁺- клеток. Далее изложены данные о роли фетоплацентарных белков в дифференцировке MDSC в культуре, с учетом деления их на субпопуляции - моноцитарную и полиморфноядерную. Далее Ксения Юрьевна изложила подробное исследование роли фетоплацентарных белков в регуляции экспрессии аргиназы 1 и индоламин-2,3-диоксигеназы в MDSC,

полученных из CD11b⁺-клеток. Важно отметить методическую сложность данных исследований, потому как речь идет о внутриклеточном окрашивании антителами после пермеабелизации клеток. В заключительной, 7 главе приведены данные о влиянии белков на цитокиновый профиль в культурах клеток, индуцированных в фенотип MDSC.

В разделе «Заключение» автор обобщает полученные результаты, описанные в главах собственных исследований, и сопоставляет их с задачами исследования. Заключение отличается последовательным и логичным изложением результатов диссертационной работы.

Выводы соответствуют цели и задачам исследования, и полностью отражают полученные результаты.

Рекомендации по использованию данных и выводов диссертации.

Результаты исследования являются основой для дальнейшего изучения роли фетоплацентарных белков в формировании иммунной толерантности в период беременности. Разработанную модель генерации MDSC можно использовать при тестировании веществ-кандидатов на роль иммуномодуляторов.

На сегодняшний день данные исследования включены в лекции для студентов кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ПГНИУ, а также в научную деятельность Лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии ИЭГМ УрО РАН.

Замечания и вопросы по работе. В целом диссертационная работа Шардиной Ксении Юрьевны является законченным научным исследованием. Работа отличается ступенчатым изложением материала, разнообразным арсеналом использованных методов, а также выводами, которые хорошо обобщают всю работу в целом. Основные результаты опубликованы в рецензируемых журналах и представлены на российских и международных конференциях. Принципиальных замечаний к кандидатской диссертации нет.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы:

1. Итак, в условиях длительного инкубирования CD33⁺- и CD11b⁺ -клеток с внесением цитокинов вы получаете MDSC с известным фенотипом. Однако, очевидно, что после 7 суток культивирования в системе могут генерироваться также и дендритные клетки и макрофаги. Оценивали ли Вы их присутствие? Как Вы думаете, могут ли они влиять на Ваши результаты?

2. В вашей работе оценивались фетоплацентарные белки, в концентрациях, соответствующих физиологической беременности. Белки исследовались по отдельности. По какой причине вы не стали их объединять, чтобы полнее смоделировать беременность?

3. Почему Вы не стали брать как объект изучения кровь беременных женщин, где уровень MDSC повышен и очевидно, что получение этих клеток не представляло бы такой методической трудности?

Вышеизложенные вопросы сформулированы для уточнения и не ставят под сомнение научную обоснованность выполненного диссертационного исследования.

Заключение. Диссертационная работа Шардиной Ксении Юрьевны на тему: «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – определение роли фетоплацентарных белков в формировании иммунной толерантности посредством воздействия на дифференцировку и функциональную активность миелоидных супрессорных клеток.

Не вызывает сомнений важность исследования, которая имеет существенное значение для биологии, а именно для иммунологии. По научной новизне, актуальности, поставленным целям и задачам, выбранным методам и обоснованности научных результатов представленная диссертация

Email: irina_pashnina@list.ru

Отзыв официального оппонента Пашниной И.А. поступил «18» сентября 2024 года

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01, к.б.н.


Ю.А. Журавлева

С отзывом официального оппонента Пашниной И.А. ознакомлена «18» сентября 2024 года

Соискатель


К.Ю. Шардина