

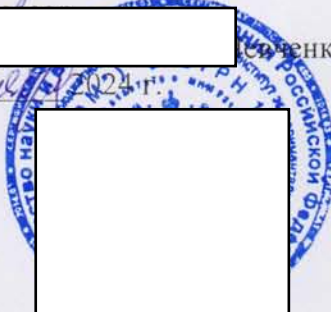
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины»
197022, Санкт-Петербург,
ул. Академика Павлова, д. 12

"УТВЕРЖДАЮ"

И.о. директора ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»,

д.м.н.,

"2" *сентября* 2024 г.



О Т З Ы В

ведущей организации о научно-практической значимости диссертации Шардиной Ксении Юрьевны «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7.

Иммунология

Актуальность темы диссертации. Формирование иммунной толерантности во время беременности – один из важнейших аспектов успешного вынашивания плода. Поскольку этот процесс затрагивает разные уровни организации, необходимо детальное изучение и оценка этого иммунологического феномена для избегания нежелательных реакций организма матери на плод. Так, помимо известных иммунологических механизмов, таких как преобладание Th2/Treg – ответов, существует регуляторная клеточная популяция – миелоидные супрессорные клетки (MDSC). Это особая популяция, обладающая широким спектром иммуносупрессивных механизмов, которые направлены на сохранение плода. При этом спонтанные аборты нередко связаны с пониженным содержанием MDSC, что говорит об особой роли этих клеток при беременности. Именно поэтому важно изучать и анализировать эту популяцию клеток для возможности дальнейшего манипулирования MDSC при различных патологиях в период гестации. С этой стороны, актуальными претендентами являются белковые регуляторы, которые синтезируются при беременности и играют ключевые роли для успешного вынашивания плода. В кандидатской диссертации Шардиной К.Ю. были рассмотрены такие белки как альфа-фетопротеин, гликоделин и хорионический гонадотропин человека.

Важно обратить внимание и на то, что в данной работе MDSC были получены методом направленной дифференцировки клеток периферической крови здоровых доноров. Для этого были разработаны две схемы культивирования, в результате

которых удалось получить популяцию MDSC для ее дальнейшего изучения и анализа. Этот аспект также раскрывает актуальность диссертационной работы.

Связь с планом работы института. Работа выполнена в соответствии с государственным заданием АААА-А19-119112290007-7 и при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 20-315-90001 и № 19-29-04055.

Характеристика работы. Диссертационная работа изложена на 120 страницах, содержит 14 рисунков и 5 таблиц. Текст диссертации включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список литературы, состоящий из 190 источников, а также приложения.

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, раскрыта новизна, поставлены цели и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» охарактеризованы миелоидные супрессорные клетки, описан их фенотип, механизмы иммунной супрессии и роль при беременности. Во второй главе описаны исследованные белки беременности, особое внимание уделено характеристике их иммуномодулирующей активности.

В главе «Материалы и методы» охарактеризованы выбранные методы, которые позволяют выполнить поставленные в работе задачи. Методы воспроизводимы, поскольку детально раскрыты, а выбранная статистическая обработка данных – логична. Также продемонстрированы схемы индукции MDSC, которые сопровождаются понятными иллюстрациями.

В главе 3 показаны результаты исследования, которые сопровождаются таблицами и рисунками, представлены схемы получения MDSC из CD33- и CD11b-клеток. Глава содержит подробное описание результатов влияния фетоплацентарных белков на дифференцировку MDSC, PMN-MDSC и M-MDSC, а также на функциональную активность MDSC, которая выражается в продукции аргиназы -1 и индолаимн-2,3-диоксигеназы. Также в ней представлены результаты мультиплексного анализа цитокинов, подкрепленные корреляционным анализом.

В заключении Шардиной К.Ю. обсуждены и обобщены результаты исследования, сделаны выводы, которые соответствуют поставленным задачам. Представленные практические рекомендации достаточны, логично выстроены и аргументированы.

Автореферат отражает содержание диссертации. Оформление диссертации и автореферата соответствует необходимым требованиям.

Достоверность и новизна научных результатов. В ходе проведения исследования впервые продемонстрировано влияние фетоплацентарных белков (альфа-фетопротеин, гликоделин и хорионический гонадотропин человека) на регуляцию дифференцировки MDSC, M-MDSC и PMN-MDSC, а также экспрессию ферментов Arg-1, IDO и продукцию цитокинов. Ксенией Юрьевной разработаны две схемы для дифференцировки клеток в фенотип популяции MDSC в системе *in vitro*.

Достоверность полученных данных определяется большим объемом проведенных исследований с использованием современных экспериментальных методов: иммуномагнитная сепарация, проточная цитофлуориметрия, культивирование клеток *in vitro*, мультиплексный анализ цитокинового профиля по запатентованной технологии.

Результаты работы обсуждались на конференциях регионального, всероссийского и международного уровней, опубликовано 15 статей, из них 6 – в журналах, включенных в Перечень ВАК для публикации результатов диссертационных исследований по специальности 3.2.7. Иммунология и/или индексируемых в МБД Scopus, WoS и RSCI.

Значимость полученных результатов для науки и практики. Результаты диссертационного исследования Шардиной К.Ю. имеют теоретическую и практическую значимость. Теоретическая значимость работы заключается в демонстрации регуляторной активности альфа-фетопротеина, гликоделина и хорионического гонадотропина человека в отношении MDSC. Полученные данные существенно расширяют представления о роли фетоплацентарных белков в поддержании иммунной толерантности к полуаллогенному плоду. Практическая значимость работы заключается в разработке схем индукции MDSC *in vitro*, а их применение может внести значительный вклад в исследование миелоидных супрессорных клеток. Кроме того, результаты исследования демонстрируют потенциальную возможность применения белков фетоплацентарного комплекса в качестве препаратов для манипулирования MDSC при различных патологиях.

Соответствие специальности «иммунология», биологические науки. По объему и новизне полученных автором данных, разработанных теоретических положений диссертационная работа Шардиной К.Ю. на тему «Роль

фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» полностью соответствует паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология, биологические науки.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты работы вносят вклад в понимание процесса иммунной толерантности при беременности и могут быть использованы исследователями для дальнейшего изучения и анализа этого феномена. Полученные данные могут быть включены в реализацию программ бакалавриата, магистратуры, аспирантуры по подготовке студентов и научно-педагогических кадров биологических специальностей.

Практические выводы исследования, включающие разработанные схемы индукции MDSC, могут быть использованы в научных исследованиях, посвященных анализу этих клеток. Исследования данной работы включены в курс «Иммунология» кафедры микробиологии и иммунологии Пермского Государственного Национального Исследовательского Университета (ПГНИУ) и в научную работу ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» Уральского отделения Российской академии наук.

Замечания и вопросы. В ходе рассмотрения работы принципиальных замечаний не выявлено.

Вопросы:

1. Чем обосновано определение довольно большого спектра цитокинов (37 цитокинов) в супернатантах культур CD33⁺- CD11b⁺- клеток, индуцированных в фенотип MDSC?

2. Можно ли судить о функциональной активности только по уровням ИДО и Арг 1?

Закключение. Таким образом, диссертационная работа Шардиной К.Ю. на тему: «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, которая содержит решение существенной научной задачи, важной для специальности 3.2.7. Иммунология, заключающейся в анализе влияния фетоплацентарных белков альфа-фетопротеина, гликоделина, хорионического гонадотропина на регуляцию дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток.

По актуальности, научной новизне и практической значимости, диссертация полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм. и доп. от 30.07.2014 г., 21.04.2016 г., 02.08.2016 г., 29.05.2017 г., 28.08.2017 г., 01.10.2018 г., 20.03.2021 г., 11.09.2021 г., 26.09.2022 г., 26.01.2023 г., 18.03.2023 г., 26.10.2023 г., 25.01.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании отдела иммунологии Института экспериментальной медицины "29" августа 2024 г., протокол заседания № 206.

Заведующая лабораторией общей иммунологии
отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
Минобрнауки России
Доктор медицинский наук, профессор



Н.Б. Серебряная

Я, Наталья Борисовна Серебряная, даю согласие на обработку моих персональных данных и включение в аттестационное дело диссертанта.



Н.Б. Серебряная

«29» августа 2024 год

Подпись д.м.н., проф. Н.Б. Серебряной
ЗАВЕРЯЮ

Контактная информация:

ФГБГУ «ИЭМ» Минобрнауки России
197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12.
Телефон: 8 (812) 234-68-68
E-mail: iem@iemspb.ru
Сайт: <https://iemspb.ru/>

*Подпись Н.Б. Серебряной удостоверяю.
Зам. начальника УРП и ОДО
ФГБНУ «ИЭМ»*



Отзыв ведущей организации – ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» – поступил
05.09.2024 года
Ученый секретарь Совета 24.1.063.01



Ю.А. Журавлева

С отзывом ведущей организации ознакомлена 05.09.2024 года
Соискатель



К.Ю. Шардина