

ОТЗЫВ

на автореферат Шардиной Ксении Юрьевны на тему «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.

Согласно современным представлениям, клетки иммунной системы и иммунологически активные мессенджеры играют важную роль в процессе имплантации эмбриона, ремоделировании тканей и морфогенезе провизорных органов. В то же время, «излишняя» активность иммунных реакций ведет к развитию патологий беременности, поэтому для успешного развития беременности требуется постоянно подавлять иммунный ответ на патернальные антигены. И если роль Т-регуляторных клеток в период беременности изучается довольно активно, то супрессорные клетки, относящиеся к клеткам врожденного иммунитета, изучаются только сейчас. В частности, миелоидные супрессорные клетки (MDSC), которые заполнили идейную нишу иммуносупрессии со стороны миелоидных клеток, были выделены в отдельную субпопуляцию только в 2009 г (Gabrilovich D. et al.). Важно отметить, что их роль в процессах беременности только изучается, и до сих пор нет четкого понимания о регуляции этих клеток и их взаимосвязи с патологиями. Именно поэтому данная работа расширяет наши представления о том, как MDSC взаимодействуют с основными белками беременности, хорионическим гонадотропином, гликоделином и альфа-фетопротеином. Таким образом, диссертация Шардиной Ксении Юрьевны посвящена исследованию механизмов формирования иммунной толерантности материнского организма к генетически чужеродному для нее плоду.

Объектами исследования явились моноклеарные клетки периферической крови небеременных женщин, из которых методом иммуномагнитной сепарации выделяли CD33⁺ и CD11b⁺-клетки. Учитывая тот факт, что фенотип MDSC определяется как CD33⁺CD11b⁺HLA-DR⁻Lin⁻, исследовать их через сепарацию по двум основным поверхностным маркерам является правильным решением. Стоит отметить, что невзирая на то, что в литературе описывается несколько протоколов индукции MDSC in vitro, получение стабильной популяции этих клеток из материала здоровых доноров является отдельной исследовательской задачей. В данной диссертации предложено две авторские схемы индукции MDSC из CD33⁺ и CD11b⁺-клеток.

Обрабатывая исследуемые клетки фетоплацентарными белками в условиях *ex vivo*, автор изучал влияние белков на различные проявления функциональной активности MDSC.

В частности, исследовалось влияние фетоплацентарных белков на генерацию MDSC с учетом субпопуляций (гранулоцитарные и моноцитарные MDSC), а также на экспрессию IDO и цитокиновый профиль изучаемых клеток. Стоит отметить, что в работе использовались самые современные и высокотехнологичные методы исследований, такие как иммуномагнитная сепарация клеток, проточная цитометрия и мультиплексный анализ. Также в работе использованы современные методы статистического анализа данных. Важно, что полученные данные имеют не только теоретическое значение, но и создают основу для разработки новых иммунофармакологических препаратов на основе фетоплацентарных белков.

Научная новизна исследования заключается в том, что автор впервые показал, что хорионический гонадотропин, гликоделин и альфа-фетопротеин способны модулировать развитие и функции MDSC в условиях *in vitro*. До сих пор в научном пространстве не было данных о прямом влиянии этих белков на дифференцировку MDSC. При этом очевидно, что именно эти белки секретируются в организме беременной женщины и выполняют множество биологических функций, однако об их иммуномодулирующей активности в отношении MDSC ранее не было известно. Кроме этого, исследованные в работе белки секретируются также и некоторыми опухолевыми клетками, что повышает актуальность работы.

Результаты работы Шардиной Ксении Юрьевны внедрены в учебный процесс Пермского государственного научно-исследовательского университета на кафедре микробиологии и иммунологии, а также в научно-исследовательскую деятельность ИЭГМ УрО РАН. Материалы диссертации хорошо представлены в ряде публикаций, среди которых есть и статьи, реферированные в базе данных Scopus. Помимо экспериментальных статей, было опубликовано три обзора. В итоге, по теме диссертации опубликовано 15 работ. Автореферат оформлен согласно требованиям ВАК и содержит адекватный иллюстрирующий материал. Принципиальных замечаний к работе нет.

Заключение: Таким образом, диссертационная работа Шардиной Ксении Юрьевны на тему "Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток", представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой

решена научная задача, связанная с расшифровкой действия фетоплацентарных белков на миелоидные супрессорные клетки, что имеет важное значение для иммунологии, и соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изм. и доп. от 21.04.2016, 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 присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры физиологии
и патофизиологии медицинского
факультета им. Т.З. Биктимирова

Института медицины, экологии и физической культуры

ФГБОУ ВО Ульяновский

государственный университет



Абакумова Татьяна Владимировна

Я, Абакумова Татьяна Владимировна, согласна на обработку моих персональных данных и включение их в аттестационное дело диссертанта.



06.09.2024

Подпись д.б.н., доцента Абакумовой Татьяны Владимировны
ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь ФГБОУ ВО Ульяновский
государственный университет



Литвинко Ольга Александровна

Контактные данные: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный университет» (Ульяновский государственный университет), кафедра физиологии и патофизиологии

Адрес: ул. Архитектора Ливчака, 2; Телефон: 32-70-71;

E-mail: taty-abakumova@yandex.ru

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ

Шардиной Ксении Юрьевны на тему «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

Диссертационная работа Шардиной К.Ю. посвящена изучению механизмов поддержания иммунной толерантности во время беременности. Вопрос рассматривается через призму влияния фетоплацентарных белков на индукцию миелоидных супрессорных клеток (MDSC), обладающих широким спектром механизмов иммунной супрессии. В научной литературе информация об MDSC ограничена, что обуславливает актуальность изучения роли этих клеток при беременности.

В своем исследовании Шардина К.Ю. впервые отработала две схемы получения MDSC *in vitro* путем направленной цитокиновой индукции клеток периферической крови человека. Новизна работы основана на демонстрации влияния изученных фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки MDSC, включая субпопуляции M-MDSC и PMN-MDSC, а также экспрессию ферментов ИДО, Арг 1 и продукцию цитокинов. Диссертантом впервые изучено влияние альфа-фетопротеина, гликоделина и хорионического гонадотропина человека на дифференцировку не только общей популяции MDSC, но и двух основных субпопуляций: полиморфноядерных (PMN-MDSC) и моноцитарных (M-MDSC) супрессоров. С помощью измерения внутриклеточной экспрессии индоламин-2,3-диоксигеназы и аргиназы-1 исследованы функциональные показатели MDSC, индуцированных *in vitro*.

В диссертационной работе установлено, что альфа-фетопроtein, гликоделин и хорионический гонадотропин человека регулируют уровень моноцитарных и полиморфноядерных MDSC, а также продукцию этими клетками широкого спектра цитокинов и ферментов ИДО и Арг 1. По результатам проделанной работы разработано две схемы для дифференцировки клеток в фенотип популяции MDSC.

Представленное исследование проведено на высоком научном и методическом уровнях. Полученные результаты обработаны адекватными методами математической статистики. Научные выводы вытекают непосредственно из экспериментальных данных, обоснованы и в полной мере отражают результаты.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями и полностью отражает основную суть всего диссертационного исследования. Его структура и стиль повествования не вызывают нареканий.

Работа Шардиной Ксении Юрьевны на тему «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» (в ред. Постановления 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.), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Данные об авторе отзыва:

заведующая лабораторией медицинской экологии
и рекреационных ресурсов; ведущий научный сотрудник
лаборатории биомедицинских исследований
доктор биологических наук, профессор РАН
Виткина Татьяна Исааковна

На обработку персональных данных согласна.



Подпись заверяю

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания" - Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, адрес: 690105, Россия, Владивосток, Русская, 73Г; +7 (423) 2788-205; +7 (423) 2788-201; niivl.ru; vfdnz@mail.ru

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

Шардиной Ксении Юрьевны на тему «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

Представленная к защите работа посвящена изучению взаимодействия основных фетоплацентарных белков и иммунной системы на уровне миелоидных супрессорных клеток врожденного иммунитета - MDSC. Исследуемые диссертантом белки, в частности, хорионический гонадотропин (ХГ), гликоделин и альфа-фетопротеин (АФП) являются ключевыми фетоплацентарными белками, сопровождающим процессы гестации. Все более дискутируется чрезвычайно важная роль MDSC в период беременности, в то время как недостаточная или избыточная активность этих клеток ассоциирована с патологическими процессами. Регулируют ли белки беременности развитие и функции этих клеток? Сможем ли мы манипулировать состоянием этих клеток в будущем? Именно на эти вопросы ищет ответ диссертант. Кроме того, продукция этих белков вне беременности является маркером опухолевого процесса, что подчеркивает актуальность исследования.

Целью диссертационной работы Шардиной Ксении Юрьевны является исследование роли ХГ, АФП и гликоделина в регуляции дифференцировки и функциональной активности MDSC. На защиту выносятся 5 положений, которые логично вытекают из поставленных задач.

Выводы не противоречат изложенному материалу.

Диссертантом установлено, что исследуемые фетоплацентарные белки способны регулировать дифференцировку общего пула MDSC, а также субпопуляций MDSC (моноцитарные и гранулоцитарные клетки) в системе *in vitro*. Также показано, что АФП, ХГ и гликоделин могут модулировать внутриклеточную экспрессию IDO, а также цитокиновый профиль данных клеток. Так как диссертант имел дело с клетками здоровых доноров, то первая задача заключалась в разработке рабочей модели индукции MDSC из донорских клеток, что привело к получению двух рабочих моделей для работы с MDSC (CD11b+ и CD33+). Важно пояснить, что у здоровых доноров уровень MDSC в периферической крови крайне невысок и едва достигает 1

%, однако только при работе с клетками здоровых доноров мы получаем полноценную унифицированную модель индукции MDSC. Очевидно, что велик соблазн взять для исследования клетки от доноров с патологией, прежде всего онкологическими заболеваниями. Однако, в данном случае на дифференцировку MDSC *in vivo* оказывают влияние разные факторы, и мы будем иметь дело с гетерогенными клетками, и не сможем экстраполировать полученные данные на физиологические процессы. Именно поэтому усилия по созданию и адаптации собственной рабочей модели индукции MDSC крайне важны в данной работе. Исследуемый диссертантом ХГ активно применяется в клинической практике (Profasi, Pregnyl и т.д.) в курсах лечения бесплодия и в циклах подготовки к экстакорпоральному оплодотворению, и поэтому новые сведения о его иммуномодулирующей активности важны для иммунофармакологии.

Важно отметить высокий методический уровень данной работы, где применялись самые современные иммунологические методы – иммуномагнитная сепарация, проточная цитометрия, внутриклеточное окрашивание клеток, мультиплексный анализ цитокинов в супернатантах культур клеток.

Результаты работы Шардиной Ксении Юрьевны внедрены в учебный процесс ПГНИУ и научную деятельность ИЭГМ УрО РАН. Работа неоднократно докладывалась на разнообразных конференциях, в том числе и на английском языке. По материалам диссертации опубликовано 15 работ, в том числе 6 статей в журналах списка ВАК. В большинстве случаев диссертант указан первым автором, помимо экспериментальных работ опубликовано три полноценных обзора. Автореферат оформлен согласно требованиям ВАК, в иллюстративном материале соблюден баланс между таблицами и рисунками. Принципиальных замечаний к работе нет.

Заключение:

Таким образом, диссертационная работа Шардиной Ксении Юрьевны на тему «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» является законченным научным исследованием и в полной мере соответствует по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от

24.09.2013 г. 842 с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, ... ред. 18.03.2023, 26.10.2023), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий,
профессор кафедры фундаментальной медицины
ОНК «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)»
БФУ им. И. Канта

доктор медицинских наук, доцент

Литвинова Л.С.

С обработкой персональных данных согласна

Литвинова Л.С.

30.07.24.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»

Адрес организации: 236041, Россия, Калининград, ул. А. Невского, д.14

Тел. +7(4012) 595595/6631

E-mail: post@kantiana.ru; l.litvinova@kantiana.ru

