

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Пермский
федеральный исследовательский центр
Уральского отделения Российской
академии наук,
И.И. Корр. РАН, д.ф.-м.н.



О.А. Плехов

«20» июня 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

«Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук

Диссертация «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» выполнена в лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» («ИЭГМ УрО РАН») – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Шардина Ксения Юрьевна являлась аспирантом и инженером лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии «ИЭГМ УрО РАН».

В 2019 г. Шардина К.Ю. окончила магистратуру биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный

национальный исследовательский университет»», защитила магистерскую диссертацию теме «Влияние альфа-фетопротеина на дифференцировку Т-хелперов 17 типа» и получила диплом магистра (биология, 06.04.01), регистрационный номер 1395 (105931 0206424). После окончания магистратуры Ксения Юрьевна поступила в аспирантуру ФГБУН ПФИЦ и успешно закончила обучение, получив квалификацию «Исследователь. Преподаватель-исследователь» (30.06.01 Фундаментальная медицина), регистрационный номер 105924 0329058.

Научный руководитель: доктор биологических наук Заморина Светлана Анатольевна работает ведущим научным сотрудником лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии «ИЭГМ УрО РАН».

По итогам апробации диссертации «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» проблемной комиссии по иммунологии принято следующее заключение:

Оценка выполненной работы. В диссертации Шардиной К.Ю. проведено изучение роли белков беременности альфа-фетопротеина, гликоделина и хорионического гонадотропина человека в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток человека путем иммунофенотипирования, измерения внутриклеточной экспрессии индоламин-2,3-диоксигеназы и аргиназы-1 с одновременной оценкой цитокинового профиля. Диссертация является актуальной законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой решены поставленные цель и задачи, работа обладает внутренним единством, что подтверждается наличием разработанного плана исследований и взаимосвязи результатов и выводов.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Результаты исследований получены при непосредственном участии К.Ю. Шардиной. Весь материал обработан и проанализирован лично

автором, что подтверждается актом проверки достоверности первичной документации и личного участия автора.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Проверка первичной документации проведена комиссией в составе: председатель – заместитель директора «ИЭГМ УрО РАН» по научной работе, с.н.с. лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН», д.б.н. Д.О. Егорова; с.н.с. лаборатории адаптации микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН», к.б.н. Л.Ю. Нестерова; н.с. лаборатории алканотрофных микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН», к.б.н. Е.А. Тюмина (приказ директора «ИЭГМ УрО РАН» № 1252/17 от 20.04.2023 г.). Первичная документация соответствует материалам исследований, предъявлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Составлен акт проверки первичной документации от 20 апреля 2023 г.

Актуальность проблемы. Известно, что во время беременности MDSC являются важными регуляторами иммунного ответа при вынашивании эмбриона. Пониженное количество MDSC ассоциировано со многими патологиями, которые могут привести к выкидышу. Поскольку поддержание иммунной толерантности во время беременности – это процесс, включающий в себя вовлечение не только тканей и органов, но также гормонов и фетальных белков, важно понимать какой вклад в этот процесс вносит отдельный белок, синтезируемый только в организме беременной женщины. Концепция настоящей диссертационной работы сведена к тому, что изучаемые белки беременности, а именно альфа-фетопротеин (АФП), гликоделин (ГД) и хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) должны стимулировать развитие и функциональную активность этих клеток, поскольку в период беременности возникает необходимость подавлять иммунный ответ материнского организма на эмбриональные антигены.

Актуальность изучаемой тематики имеет несколько уровней – фундаментальный, заключенный в исследовании вклада конкретных белков в формирование иммунной толерантности к полуаллогенному эмбриону через

дифференцировку истинных супрессоров – MDSC. Прикладной аспект связан с возможностью применять белки беременности в качестве направленных модуляторов иммунной толерантности в виде фармакологического препарата.

Степень новизны и практической значимости полученных автором результатов. В рамках диссертационной работы разработаны две схемы дифференцировки клеток в фенотип MDSC в условиях *in vitro*. Первый метод подразумевает использование CD33-клеток и цитокинов IL-6, GM-CSF, а второй - CD11b-клеток и IL-1 β , ЛПС и GM-CSF. Впервые исследовано влияние АФП, ГД и ХГЧ на дифференцировку MDSC, включая субпопуляции – M-MDSC и PMN-MDSC и проведена оценка влияния фетоплацентарных белков на функциональное состояние MDSC путем измерения внутриклеточной экспрессии ферментов аргиназы-1 (Арг 1) и индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) и измерения цитокинового профиля супернатантов культур.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость настоящей работы состоит в исследовании влияния белков фетоплацентарного комплекса на иммуносупрессорную популяцию MDSC. Полученные данные позволят глубже понимать вклад фетоплацентарных белков в формирование толерантности при беременности, а также шире изучить механизмы их взаимодействия с MDSC. Прикладной аспект исследования заключается в потенциальной возможности использовать белки фетоплацентарного комплекса в качестве иммунофармакологических препаратов. Разработка собственной модели получения MDSC путем последовательной цитокиновой стимуляции также имеет теоретическую значимость, фиксируя особенности генерации этих клеток из периферической крови здорового человека. Прикладное значение данной модели заключается также в потенциальном использовании MDSC в клеточной терапии.

Внедрение в практику. Полученные в ходе представленных исследований результаты внедрены в учебный процесс на кафедре микробиологии и иммунологии ПГНИУ в курс «Иммунология».

Использование модели генерации MDSC внедрено в деятельность ИЭГМ УрО РАН для реализации темы ГЗ АААА-А19-119112290007-7 и гранта РНФ № 22-25-00378.

Специальность, которой соответствует диссертация.

Диссертационная работа Шардиной Ксении Юрьевны полностью соответствует п. 4 «Исследование роли иммунных механизмов в различных физиологических процессах (регенерации, репродукции, старении, нейроэндокринных взаимодействиях, взаимодействии с микробиомом и др.)» паспорта специальности 3.2.7. Иммунология.

Связь диссертационной работы с планами НИР, участием в грантах.

Диссертационная работа выполнялась в рамках государственного задания «Механизмы регуляции иммунной системы» (№ государственной регистрации НИОКТР АААА-А19-119112290007-7.) и по грантам Российского фонда фундаментальных исследований № 20-315-90001 и № 19-29-04055. Ее результаты вошли в отчеты по НИР «ИЭГМ УрО РАН».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных диссертантом. Соискатель имеет 15 работ по теме диссертации, из них 5 работ в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов, и изданиях для опубликования основных научных результатов диссертации (в том числе 7 работ – в международной базе Scopus, 5 – в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК), 7 работ опубликованы в материалах Всероссийских и международных конференций. Изложенные материалы полностью отражают результаты диссертационной работы.

Наиболее значимые публикации:

1. Тимганова, В.П. Получение миелоидных супрессорных клеток человека в экспериментальной модели *in vitro* / В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, У.В. Ужвиюк, К.Ю. Шардина, С.А. Заморина, М.Б. Раев // Российский иммунологический журнал – 2020. – Т. 23, № 2. - С. 157-162.

2. Шардина, К.Ю. Применение альфа-фетопротеина в иммунофармакологии – история вопроса / К.Ю. Шардина, С.А. Заморина, М.Б. Раев, В.А. Черешнев // Вестник Пермского университета. Серия: Биология – 2020. – № 2. – С. 145-153.
3. Заморина, С.А. Роль гликоделина в регуляции дифференцировки миелоидных супрессорных клеток / С.А. Заморина, В.П. Тимганова, К.Ю. Шардина, С.В. Ужвиюк, М.С. Бочкова, П.В. Храмцов, М.Д. Кропанева, М.Б. Раев // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 4. – С. 329-334.
4. Заморина, С.А. Влияние альфа-фетопротеина на дифференцировку миелоидных супрессорных клеток / С.А. Заморина, К.Ю. Шардина, В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, С.В. Ужвиюк, М.Б. Раев, В.А. Черешнев // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 501, № 1. – С. 569-572.
5. Zamorina, S.A., Pregnancy-associated proteins as a tool in the therapy of autoimmune diseases and alloimmune disorders (review). S.A. Zamorina, Y.N. Troynich, N.P. Loginova, Y.A. Charushina, K.Y. Shardina, V.P. Timganova // Science and Global Challenges of the 21st Century - Science and Technology. Perm Forum 2021. Lecture Notes in Networks and Systems. Springer, Cham. – 2021. – Vol. 342.
6. Черешнев, В.А. Роль альфа-фетопротеина в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток / В.А. Черешнев, С.А. Заморина, К.Ю. Шардина, С.В. Ужвиюк, В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, П.В. Храмцов, М.Б. Раев // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2022. – № 2. – С. 56-63.
7. Шардина, К. Ю. Роль миелоидных супрессорных клеток в процессах формирования иммунной толерантности в период беременности / К.Ю. Шардина, С. А. Заморина, М. Б. Раев, В. А. Черешнев // Цитология. – 2022. – Т. 64, № 2. – С. 116-125.
8. Shardina, K. Yu. Generation of human myeloid-derived suppressor cells from CD11b⁺ cells in vitro / K.Yu. Shardina, V.P. Timganova, M.S. Bochkova, S.V.

Uzhviyuk // Science and Global Challenges of the 21st Century – Innovations and Technologies in Interdisciplinary Applications. Perm Forum 2022. - 2022- Vol. 622.– P.539-547.

9. Шардина, К.Ю. Альфа-фетопротеин как фактор дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток / К.Ю. Шардина, С.А. Заморина, В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, С.В. Ужвиюк, В.А. Черешнев // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2023. № 2. С. 83-91.

10. Изучение влияния хорионического гонадотропина человека на дифференцировку и функциональную активность миелоидных супрессорных клеток / К.Ю. Шардина, В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, С.В. Ужвиюк, С.А. Заморина // Биологические мембраны. – 2023, Т. 40, № 5, С. 404-412.

Рекомендации к защите диссертации с учетом научной зрелости соискателя. Шардина Ксения Юрьевна – квалифицированный иммунолог. По результатам научной деятельности и благодаря своим профессиональным качествам К.Ю. Шардина достойна присвоения степени кандидата биологических наук. Кандидатская диссертация Шардиной К.Ю. на тему «Роль фетоплацентарных белков в регуляции дифференцировки и функциональной активности миелоидных супрессорных клеток» является законченной научно-квалификационной работой, которая имеет значение для иммунологии, а именно, иммунологии репродукции, в которой решена задача оценки роли фетоплацентарных белков в формировании иммунной толерантности через вовлечение миелоидных супрессорных клеток. Научный руководитель характеризует соискателя положительно. Работа отвечает требованиям ВАК РФ к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней») и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 3.2.7. Иммунология.

Заключение принято на заседании проблемной комиссии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской

[illegible]

С.В. Гейн