

СТЕНОГРАММА

заседания Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004.027.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (протокол № 12)

г. Екатеринбург

18 декабря 2019 г.

Председатель – Юшков Б.Г., зам. председателя Совета Д 004.027.02, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор, ЗДН РФ

Секретарь – Тузанкина И.А., ученый секретарь Совета Д 004.027.02, д.м.н., профессор, ЗДН РФ

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

«Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-граммотрицательные бактерии», представленной Добрыниной М.А. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Научные руководители:

- Черешнев В.А., академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
- Гриценко В.А., доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

- Тоголян А.А., академик РАН, д.м.н., проф.,
- Калуцкий Павел Вячеславович, д.м.н., проф.

Ведущая организация: Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (г.Пермь)

Екатеринбург - 2019

Юшков Б.Г., член-корр. РАН, д.м.н., профессор, ЗДН РФ, зам. председателя Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004.027.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (далее – дис. совета). Уважаемые члены диссертационного совета, из 21 члена дис. совета на сегодняшнем заседании присутствуют 16 человек. Из них, 8 докторов наук по специальности 14.03.03 – патофизиология, 8 – по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Персонально присутствуют:

- | | |
|--------------------------------------|---|
| 1. Черешнев Валерий Александрович | председатель Совета по Д 004.027.02, академик, д.м.н., профессор, 14.03.09; медицинские науки |
| 2. Юшков Борис Германович | зам. председателя Совета Д 04.027.01, д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, ЗДН РФ, 14.03.03, биологические науки |
| 3. Тузанкина Ирина Александровна | ученый секретарь Совета Д 004.027.02, д.м.н., профессор, ЗДН РФ, 14.03.09, медицинские науки |
| 4. Бейкин Яков Борисович | д.м.н., профессор, 14.03.09, медицинские науки |
| 5. Бельтюков Евгений Кронидович | д.м.н., профессор, 14.03.09, медицинские науки |
| 6. Гусев Евгений Юрьевич | д.м.н., профессор, 14.03.09, медицинские науки |
| 7. Данилова Ирина Георгиевна | д.б.н., доцент, 14.03.03, биологические науки |
| 8. Забоклицкий Николай Александрович | д.м.н., 14.03.03, биологические науки |
| 9. Зурочка Александр Владимирович | д.м.н., профессор, 14.03.09, медицинские науки |
| 10. Ковальчук Людмила Ахметовна | д.б.н., доцент, 14.03.03, биологические науки |
| 11. Котомцев Вячеслав Владимирович | д.б.н., профессор, 14.03.03, биологические науки |
| 12. Мальчиков Игорь Александрович | д.м.н., доцент, 14.03.09, медицинские науки; |
| 13. Проценко Юрий | д.б.н., 14.03.03, биологические науки |

- Леонидович
- | | | |
|---------------------------------|---|-----------|
| 14. Сарапульцев Петр Алексеевич | д.м.н., профессор, ЗДН РФ, биологические науки; | 14.03.09, |
| 15. Цывьян Павел Борисович | д.м.н., профессор, биологические науки | 14.03.03, |
| 16. Чистякова Гузель Нуховна | д.м.н., профессор, медицинские науки; | 14.03.09, |

Отсутствуют по уважительным причинам 5 человек: Бершицкий Сергей Юрьевич, д.б.н., 14.03.03, биологические науки; Леонтьев Сергей Леопольдович, д.м.н., проф., 14.03.03, биологические науки; Черешнева Маргарита Владимировна, д.м.н., проф., ЗДН РФ, 14.03.09, медицинские науки; Якушева Марина Юрьевна, д.м.н., 14.03.03, биологические науки; Филимонкова Нина Николаева, д.м.н., проф., 14.03.09, медицинские науки.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Сообщает о наличии кворума, предлагает перейти к защите диссертации. Объявляется открытой защита диссертации соискателя Добрыниной Марии Александровны на тему «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитаро-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии». Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология. Работа выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Институте иммунологии и физиологии УрО РАН.

Научные руководители:

– *Черешнев Валерий Александрович*, академик, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ИИФ УрО РАН (с 15.10.2019 согласно Постановления Президиума РАН № 173), г.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г.Екатеринбург;

– *Гриценко Виктор Александрович*, доктор медицинский наук, профессор, г.н.с. лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН (г. Оренбург).

Официальные оппоненты:

– *Толоян Арег Артемович*, академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

– *Калуцкий Павел Вячеславович*, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Ведущая организация – Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (г.Пермь).

Предоставляет слово ученому секретарю Тузанкиной И.А. для обзора основных документов.

Тузанкина И.А., ученый секретарь дис. совета, д.м.н., проф., ЗДН РФ. Информировывает о том, что в деле присутствуют все необходимые документы, оформленные в соответствии с требованиями: заявление Добрыниной М.А. от «08» октября 2019 г. в дис. совет о приеме диссертации к публичной защите; обоснование назначения второго научного руководителя Гриценко Виктора Александровича, д.м.н., проф.; личный листок по учету кадров, заверенный главным специалистом по кадрам ИИФ УрО РАН Роговой И.В.; копия диплома с отличием об окончании Челябинской государственной медицинской академии в 2010 г., присуждена квалификация врач по специальности «лечебное дело»; копия диплома о профессиональной переподготовке по программе «Клиническая

лабораторная диагностика» (420 час.) в Южно-Уральского государственном медицинском университете (с 05.09 по 25.11.2016 г.), присвоена квалификация и право ведения проф. деятельности в сфере «Клиническая лабораторная диагностика; копия сертификата специалиста, выданная Южно-Уральским государственным медицинским университетом 25.11.2016 г. сроком на 5 лет о допуске к осуществлению медицинской и фармацевтической деятельности по специальности «Клиническая лабораторная диагностика»; копия удостоверения об окончании интернатуры в 2011 г. по специальности «Терапия», выданная Челябинской государственной медицинской академией; справки об окончании очной аспирантуры ИИФ УрО РАН (с 01 июля 2011 по 30 июня 2014 года) и сдаче кандидатских экзаменов в аспирантуре, оценки за экзамены: клиническая иммунология, аллергология и английский язык – «отлично», история и философия науки (медицинские науки) – «хорошо»; информация о размещении кандидатской диссертации на сайте ИИФ УрО РАН – 08 октября 2019 г., информация о размещении автореферата кандидатской диссертации на сайте ИИФ УрО РАН – 14 октября 2019 г.; объявление о защите и размещении автореферата кандидатской диссертации на сайте ВАК – 16 октября 2019 г.; информационная справка о Добрыниной М.А. (сведения о научном руководителе, выпускающей организации, членах комиссии дис. совета, ведущей организации, официальных оппонентах); диссертация и автореферат на правах рукописи. Проверка оригинальности/уникальности по системе «Антиплагиат» показала – оригинальность автореферата 71,16 %, диссертации – 81,85 %. Диссертация и 2 экземпляра автореферата были сданы в библиотеку УрО РАН за два месяца до защиты – 17 октября 2019 года.

В деле имеются 7 актов о внедрении результатов научных исследований, в том числе *в научно-исследовательскую работу* по разработке синтетических препаратов в лаборатории иммунологии воспаления ИИФ, ФГУП «Государственный научно-исследовательский

институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России (г. Санкт-Петербург), лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – филиала Оренбургского исследовательского центра УрО РАН; *в учебный процесс* кафедры микробиологии и иммунологии ФГОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; *в практику работы* ООО «НПФ Верта» (Санкт-Петербург), ООО «Медицинского лабораторного центра «Фамилия» (Челябинск), ООО «Академического инновационного научного центра» (Челябинск). Список научных трудов по теме диссертации включает 17 наименований, в том числе, публикаций в рецензируемых изданиях – 11 (3 – Scopus, РИНЦ, 8 – РИНЦ), патенты РФ на изобретение – 2.

Авторефераты разосланы 15 ноября 2019 г. в 33 организации, из них 7 – обязательных адресов, 26 – дополнительных.

Документы соответствуют требованиям п. 29 «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», утв. приказом Минобрнауки России от 10 ноября 2017 г. № 1093.

Зачитывает *характеристику*.

Добрынина М.А. в 2010 году окончила с отличием Челябинскую государственную медицинскую академию по специальности «лечебное дело». С 2010 по 2011 проходила интернатуру по специальности «терапия». В 2011 году она была принята в очную аспирантуру Института иммунологии и физиологии УрО РАН, окончила ее в 2014 году и этом же году была принята на должность м.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН.

За время обучения и работы Добрынина Мария Александровна зарекомендовала себя как знающий, инициативный, ответственно относящийся к поставленным перед ней задачам сотрудник. Она освоила основные методы иммунологии, успешно сдала кандидатские экзамены. по

специальности (14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология), философии и английскому языку.

На базе лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН Марией Александровной был собран экспериментальный материал по изучению иммунных и антибактериальных эффектов синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии. Основные положения работы доложены на региональных, российских и международных конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работы, в том числе: 11 статей в журналах из перечня ВАК (3 – Scopus, РИНЦ, 8 – РИНЦ), 4 статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК (4 – РИНЦ), получено 2 патента РФ на изобретения.

Диссертация Добрыниной Марии Александровны может быть представлена к защите, а соискатель достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Уточняет, есть ли вопросы к ученому секретарю у членов дис. совета. Вопросов нет. Предоставляет слово для изложения основных положений диссертации соискателю Марии Александровне.

Добрынина М.А. Докладывает основные положения диссертационной работы (*доклад на DVD-R*).

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Предлагает членам дис. совета задавать вопросы соискателю. Предоставляет слово Бельтюкову Евгению Кронидовичу.

Бельтюков Е.К., д.м.н., проф. Уважаемая Мария Александровна, в автореферате в практических рекомендациях написано, что разработанные на основе синтетического пептида ZP2 косметические средства «АЦЕГРАМ» (спрей, гель) могут быть использованы у взрослых и детей старше 3 месяцев для местного применения при обработке раневых инфекций, вызванных

грамотрицательной микрофлорой (например, гнойные осложнения при синдроме диабетической стопы). Но ведь известно, что инфекции кожи, в основном, вызываются золотистым стафилококком, тем более – диабетическая стопа. Насколько служит эффективно это средство для лечения инфекций кожи, есть ли клинические исследования? Может средство Ацеграм воздействовать на стафилококк?

Добрынина М.А. Глубокоуважаемый Евгений Кронидович, у Ацеграм-спрея и Ацеграм-геля – широкий спектр действия. Вторичное инфицирование у пациентов с диабетической стопой бывает не только ассоциировано со стафилококком, но и с другими инфекциями. Эта работа посвящена исследованиям влияния Ацеграм-спрея на грамотрицательные бактерии, однако согласно исследованиям Зурочки А.В. и Зурочки В.А. с соавторами, эффективность средства Ацеграм в отношении золотистого стафилококка была доказана ранее.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Евгений Кронидович, Вы удовлетворены ответом?

Бельтюков Е.К., д.м.н., проф. Если в отношении стафилококка присутствует эффективность у этого спрея, то да.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Пожалуйста, еще желающие задать вопросы есть? Проценко Юрий Леонидович.

Проценко Ю.Л., д.б.н. Уважаемая Мария Александровна, скажите, пожалуйста, а каков механизм действия синтетического пептида? Я понимаю так, что 1500 дальтон не проникают в клетку, поэтому для того, чтобы, скажем, синтезировать цитокины, необходимо подействовать как-то на мембрану. Каким образом стимуляция цитокинов происходит с одной стороны, а с другой стороны, антибактериальное действие? Почему пептид не подавляет, скажем, не ингибирует нормальные клетки, остальные клетки, если он обладает антибактериальным действием, если он проникает в клетку?

Добрынина М.А. Глубокоуважаемый Юрий Леонидович, пептид ZP2 имеет массу 1397 дальтон. Но предполагаемый механизм воздействия (предполагаемый потому, что это уже глубокие биохимические исследования, которые пока находятся в планах) реализуется через взаимодействие рецепторов к GM-CSF на поверхности клетки.

Проценко Ю.Л., д.б.н. А как же происходит передача информации внутрь клетки?

Добрынина М.А. Глубокоуважаемый Юрий Леонидович, через трансмембранные белки по стандартным путям активация клетки.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Есть еще желающие задать вопрос? Нет? Спасибо, тогда объявляю технический перерыв.

Технический перерыв. После перерыва.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Итак, коллеги, продолжаем наше заседание. И слово предоставляется научному руководителю, академику Валерию Александровичу.

Черешнев В.А., научный руководитель, академик РАН, д.м.н., проф. Мария Александровна окончила с отличием в 2010 году, девять лет назад, Челябинскую медицинскую академию, потом перешла в аспирантуру, где активно взялась за работу, освоила новые методы. На третьем году аспирантуры всё уже было готово, но появилась дочка, София, которая отложила защиту почти на четыре года. Девочка сейчас уже пошла в первый класс, а мама активно продолжает работу. Я просто хочу сказать, что она не сидела, сложа руки, за это время у нее было опубликовано 56 печатных работ, 17 из которых по теме диссертации. Поэтому в коллективе пользуется уважением, у ней все очень хорошо, и в коллективе друг к другу относятся очень хорошо, она прекрасный организатор, активно участвует в ежегодных конференциях, которые в конце августа проводятся по проточной цитометрии и уже стали традиционными, в которых она участвует и в

качестве докладчика, и в качестве лектора по практике в проточной цитометрии. Способности отличные, и если все так и будет дальше продолжаться, эта диссертация у нее будет не последней, я так думаю. И в целом, конечно, она уже зрелый научный работник, и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидату наук (*текст отзыва прил.*).

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Спасибо, Валерий Александрович. Виктор Александрович, у Вас есть, что дополнить?

Гриценко В.А., 2-й научный руководитель, д.м.н., проф. Глубокоуважаемые коллеги, я хочу только подчеркнуть, что Марии Александровне пришлось бактериологию осваивать заново, освежать и изучать бактериологические методики как в базовом варианте, так и современном, с чем она, в общем, справилась, на мой взгляд, на отлично. Даже какие-то позиции она подсказывала, как лучше что-то сделать. Учитывая, что это экспериментальная работа, изучались различные комбинации нейтрофилов и наших бактерий, плюс синтетический пептид, мы в общем всё с ней обговаривали, а конкретно она сама делала исследования, приезжая к нам в Оренбург, от нас привозила к себе бактерии и иммунологические методики делала у себя в лаборатории. В общем, очень целеустремленная девочка, и достойна защищаемой степени. (*текст отзыва прил.*).

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Спасибо, слово ученому секретарю для обзора поступивших отзывов.

Тузанкина И.А., ученый секретарь дис. совета, д.м.н., проф., ЗДН РФ Уважаемые коллеги, разрешите зачитать заключение выпускающей организации, в качестве которой выступает *Институт иммунологии и физиологии УрО РАН*. Зачитывает текст заключения. (*прил.*).

Таким образом, диссертационная работа Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи, значимой для специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, состоящей в исследовании механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы – синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.16 № 335, 02.08.2016 № 748) и может быть представлена к защите по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, медицинские науки. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Диссертация «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии» Добрыниной Марии Александровны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заключение принято на заседании проблемной комиссии Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Присутствовало на заседании 11 членов комиссии. Результаты голосования: «за» – 11 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет чел., протокол № 3 от 18 июня 2019 года.

Оглашает положительный отзыв ведущей организации - *Института экологии и генетики микроорганизмов* – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, подписанного *Шмагелем К.В.*, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессором, зав. лабораторией экологической иммунологии ИЭГМ УрО РАН, утвержденного директором института, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. Демаковым В.А. (*отзыв прил.*). В отзыве были сделаны замечания, касающиеся стилистики написания, и задан 1 вопрос:

- Как автор объясняет тот факт, что уровень бластов в культурах с ИЛ-2 был выше, чем с ФГА? Ведь рецептор к ИЛ-2 у здоровых доноров крови присутствует только на НК-клетках (~10%) и Treg (~8%).

Добрынина М.А. С замечаниями по литературному обзору мы согласны. Что касается вопроса, то должна сказать, что CD25 рецептор (рецептор к ИЛ-2) находится не только на Т-хелперах, относящихся к фракции регуляторных Т-клеток. Он также определяется на 10-15 % Т-хелперов активированных, имеющих фенотип CD45+ CD4+ CD25+ CD127+ (Т-регуляторные имеют другой фенотип, CD 45+CD4+CD25+CD127-). Также он определяется на 5-10 % В-клеток и на TNK-клетках. При этом надо отметить, что реакция бластной трансформации относится к реакциям оценки пролиферации клеток, и при воздействии на лимфоциты, несущие на себе рецепторы CD25, их количество в течение 72 часов инкубации резко возрастает. Именно поэтому эта реакция относится к стандартному методу выявления веществ, усиливающих пролиферацию лимфоцитов и их трансформации в бласты как одного из этапов пролиферации этих клеток. А ИЛ-2 используют как один из стандартных контролей оценки пролиферации лимфоцитов. Поэтому нет ничего удивительного, что при воздействии ИЛ-2 количество бластных клеток может увеличиться до 60 и более % от общего

числа лимфоцитов, что также известно из данных литературы и описано в монографиях Зурочки А.В., Хайдукова С.В., Кудрявцева И.В. и Черешнева В.А. от 2013, 2014, 2018 гг.

Тузанкина И.А., ученый секретарь дис. совета, д.м.н., проф., ЗДН РФ В заключении ведущей организации сообщается следующее: диссертационная работа, представленная соискателем Добрыниной Марией Александровной на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи, значимой для специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, состоящей в исследовании механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.16 № 335, 02.08.2016 № 748) и может быть представлена к защите по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, медицинские науки. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология. Отзыв обсужден и утвержден на заседании лаборатории Института экологии и генетики микроорганизмов – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН «08» ноября 2019 г., протокол заседания № 14.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва: первый отзыв поступил от академика РАН, д.б.н., проф. **Зверева Виталия Васильевича**, зав. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава РФ (г. Москва). По его мнению, в диссертации Добрыниной М.А. решена конкретная научная задача по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы – синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагонального колониестимулирующего фактогра ZP-2 – грамотрицательные бактерии. Второй отзыв был предоставлен чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. **Свитич Оксаной Анатольевной**, директором ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (Москва). Она считает, что автореферат написан традиционно со строгим и логическим изложением данных собственных исследований. Все экспериментальные данные изложены в таблицах и рисунках хорошего качества. Результаты, полученные автором, являются новыми и способствуют развитию современной медицинской науки. Третий отзыв был от д.м.н., проф. **Козлова Ивана Генриховича**, зав. лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУ «НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава РФ. Он отмечает новизну исследования, достоверность результатов исследования. Отмечает логичность и строгость изложения данных собственных исследований, что облегчает восприятие излагаемого материала. Автор достоин присуждения ученой степени кандидата наук по специальности клиническая иммунология, аллергология, медицинские науки. Четвертый отзыв был предоставлен д.м.н., проф., ЗДН Республики Башкортостан **Мавзютова Айрата Радиковича**, зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, он отмечает новизну, актуальность, теоретическую и практическую значимость диссертационной работы.

В отзывах замечаний и вопросов не содержится. Все рецензенты считают, что диссертационная работа Басс Е.А., судя по автореферату, в исследовании содержится решение задачи, имеющей существенное значение для специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология и посвященной изучению механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамтрицательные бактерии. Работа соответствует требованиям ВАК, автор достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Спасибо, Ирина Александровна. Слово предоставляется официальным оппонентам. Первым выступит академик РАН, д.м.н., профессор Тотолян Арег Артемович.

Тотолян А.А., академик РАН, д.м.н., проф. Озвучивает положительный отзыв (*прил.*). Задает 2 вопроса, носящие, в целом, дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1 вопрос. Каков предположительный механизм действия синтетического пептида ZP2 на апоптоз мононуклеарных клеток?

Добрынина М.А. Пептид, по-видимому, как и целая молекула GM-KSF, влияет на апоптоз моноцитов через блокировку синтеза внутриклеточных каспаз, отвечающих за механизм программируемой гибели клеток.

2 вопрос. На какие структуры грамтрицательных бактерий может действовать пептид ZP2, нарушая их биопленкообразование?

Добрынина М.А. Предполагаемый механизм, возможно, связан с блокировкой синтеза белков (характерен для дефензинов и кателецидинов), нарушение синтеза белков приводит к нарушению механизмов, отвечающих за биопленкообразование у грамтрицательных бактерий.

Тотолян А.А., академик РАН, д.м.н., проф. В заключение скажу следующее: диссертационная работа Добрыниной Марии Александровны на

тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология - представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии. Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает 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), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Спасибо. Мария Александровна, что бы Вы хотели сказать?

Добрынина М.А. Выражает благодарность Тотоляну А.А.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Слово предоставляется второму официальному оппоненту, Калуцкому Павлу Вячеславовичу, доктору медицинских наук, профессору.

Калуцкий П.В., д.м.н., проф. Оглашает положительный отзыв (*отзыв прил.*). При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы, носящие в целом дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

Калуцкий П.В., д.м.н., проф. Известны ли аналогичные пептиды активных центров цитокинов, обладающих свойствами, характерными для цельных молекул этих цитокинов, но не относящихся к GM-KSF?

Добрынина М.А. Да, известны. Такие пептиды были получены из ИЛ-1 β , гамма-интерферона, ν -интерферона, у которых была выявлена иммуотропная активность, и у части из них – антимикробная активность.

Калуцкий П.В., д.м.н., проф. Может ли синтетический пептид активного центра GM-KSF – ZP2 действовать на другие виды микроорганизмов, например, простейшие, вирусы?

Добрынина М.А. Да, по данным исследований Зурочки А.В. с соавторами (2016 г.), Зурочки В.А. и соавторов (2018 г.), Забкова О.И. и соавторов (2018 г.) было доказано, что пептид блокирует размножение ДНК- и РНК-содержащих вирусов *in vitro* и *in vivo* (такие, как аденовирус, парагрипп, ВЭБ). На грибы пептид не действовал (Зурочка В.А., 2016 г.)

Калуцкий П.В., д.м.н., проф. Планируете ли Вы в дальнейшем изучать молекулярные механизмы действия синтетического пептида ZP2 на клетки, их рецепторы, бактерии и их клеточную стенку, внутриклеточные структуры?

Добрынина М.А. Да, на сегодняшний день продолжается исследование иммуотропного, антимикробного и репарационного действий пептида ZP2. Получены новые данные по противовирусному действию, изучается механизм действия на рецепторы фибробластов и т.д.

Калуцкий П.В., д.м.н., проф. Зачяитывает заключение: диссертационная работа Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, представляет собой законченную квалификационную научно-

исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии. Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает 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), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Спасибо, Павел Вячеславович. Мария Александровна, что Вы еще хотели бы сказать?

Добрынина М.А. Благодарит Калущкого П.В.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Уважаемые коллеги, кто из членов дис. совета желал бы принять участие в дискуссии? Николай Александрович Забокрицкий, пожалуйста.

Забокрицкий Н.А., д.м.н., доцент. Глубокоуважаемый председатель, члены диссертационного совета, глубокоуважаемая Мария Александровна. Что бы мне хотелось сказать? 21 век – это век биотехнологий. Одной из актуальных задач и технологий – это преодоление повсеместной полиантибиотикорезистентности, и эффективных решений этой задачи современной наукой, к сожалению, не предлагается. Но эти исследования ведутся, как правило, в двух направлениях – либо создание иммуотропных агентов для противоинфекционного иммунитета, либо создание новых лекарственных кандидатов, которые могли бы справиться с антибиотикорезистентностью. И мне, как фармакологу, в первую очередь,

результаты, которые сегодня были представлены, показывают и открывают широкие перспективы в создании новых лекарственных кандидатов, причем, с комбинированным, иммуностропным и антибактериальным действием, которое может быть направлено на решение этой проблемы, антибиотикорезистентности, даже несмотря на то, что на сегодняшний день уже начали появляться разработки, а именно пептиды, в том числе бактериального происхождения, обладающие антимикробным действием, и уже обозначенные как антибиотики. Особенно приятно отметить, что диссертационная работа подкреплена двумя патентами РФ на изобретение, что достаточно нечасто встретишь на сегодняшний день. Поэтому я призываю поддержать работу, я буду голосовать за.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Еще есть желающие выступить? Нет? В таком случае, Мария Александровна, Вам заключительное слово.

Добрынина М.А. Выражает всем благодарность.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Предлагает выбрать счетную комиссию в составе Цывьяна П.Б, д.м.н., проф., Проценко Ю.Л., д.б.н., Чистяковой Г.Н, д.м.н., проф. Кто «за» эту комиссию, кто «против», «воздержался»? Прошу голосовать. Принято единогласно.

Голосование.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Предоставляет слово председателю счетной комиссии.

Председатель счетной комиссии, д.м.н., проф. Цывьян П.Б Уважаемый председатель, уважаемые члены дис. совета, разрешите зачитать протокол (*зачитывает протокол № 3 счетной комиссии от 18.12.2019 г.*) Состав совета – 21 человек, присутствовало на заседании 16 членов совета (в том числе по профилю рассматриваемой диссертации – 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология – 8 человек, докторов медицинских

наук – 8 человек, докторов биологических наук). Роздано бюллетеней – 16. Осталось нерозданных бюллетеней – 5. Оказалось в урне бюллетеней – 16.

Результаты голосования по вопросу о присуждении ученой степени кандидата медицинских наук Добрыниной Марии Александровны:

за - 16, против - 0, недействительных бюллетеней - нет.

Открытым голосованием Протокол счетной комиссии утверждается единогласно.

Юшков Б.Г., чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ, зам. председателя дис. совета. Уважаемая Мария Александровна, мы Вас поздравляем с успешной защитой диссертации.

Предлагает обсудить проект заключения. Уточняет есть или нет замечания. Замечаний нет. Кто за то, чтобы принять Заключение дис. совета в целом, прошу голосовать.

Открытым голосованием Заключение дис. совета утверждается единогласно.

После внесения предложений в соответствии с п.32 «Положения о присуждении ученых степеней» единогласным открытым голосованием принимается следующий **текст заключения:**

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция, определяющая роль синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора Zp2 в стимуляции клеток иммунной системы, антимикробной активности в отношении грамотрицательных клеток;

предложена оригинальная научная гипотеза о наличии влияния низкомолекулярного синтетического пептида Zp2, представляющего собой

активный центр гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, на клетки иммунной системы организма и грамотрицательные бактерии, при этом на клетки иммунной системы пептид оказывает стимулирующее действие, а на широкий спектр грамотрицательных бактерий – действие, подавляющее их рост, размножение и биопленкообразование;

доказано наличие закономерностей, определяющих эффекты иммуотропного и антибактериального против грамотрицательных бактерий в широком диапазоне доз действия синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора Zp2;

введены новые понятия и методики выявления активности синтетических пептидов активных центров цитокинов с плеiotропным механизмом действия.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о наличии новых, неизвестных ранее, свойств синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора на иммунную систему и грамотрицательные бактерии;

применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс современных методов исследования иммунной системы и оценки механизмов антимикробной активности, как высокоспецифичных, так и интегральных, а также широкий спектр современных статистических методов;

изложены:

- факты, доказывающие иммуотропную и антимикробную активности синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора Zp2;

- аргументы, свидетельствующие о широком спектре клеток иммунной системы, отвечающих стимуляцией на воздействие синтетического пептида, антибактериальной активности в отношении широкого спектра грамотрицательных бактерий;

- доказательства значимости влияния синтетического пептида Zp2 на хемотаксис, хемокинез фагоцитов, цитокиновую продукцию этих клеток, пролиферацию и апоптоз лейкоцитов в системе взаимодействия клетки – грамотрицательные бактерии, а также на антимикробную активность в отношении различных видов грамотрицательных бактерий;

- доказательства зависимостей реакции иммунной системы от активирующих влияний синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, а также механизмов антимикробной активности от подавления роста и размножения бактерий и их биопленкообразования;

раскрыты существенные проявления теории, а именно, особенности влияния на различные звенья иммунной системы и различные грамотрицательные микроорганизмы, позволяющие синтетическому пептиду Zp2 стимулировать клетки иммунной системы и снижать рост, размножение и биопленкообразования различных видов грамотрицательных бактерий;

изучены:

- основные механизмы иммуностимулирующего действия синтетического пептида Zp2;

- особенности влияния синтетического пептида Zp2 фактора на рост и размножение широкого спектра грамотрицательных бактерий и их биопленкообразования;

- механизмы влияния синтетического пептида Zp2 на пролиферацию и апоптоз лейкоцитов, хемотаксис, хемокинез фагоцитов, цитокинопродукцию нейтрофилов в системе взаимодействия клетки иммунной системы - грамотрицательные бактерии;

проведена модернизация способов оценки иммуотропной и антибактериальной активности (подтверждена 2 патентами на изобретения).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены результаты, полученные в ходе исследования:

- в научно-исследовательскую деятельность лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН (г. Екатеринбург), лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург), ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России (г. Санкт-Петербург) – при разработке синтетических препаратов, обладающих комбинированными (антибактериальными и иммуностропными) свойствами;

- в учебный процесс студентов биологического и медицинского профиля в кафедры микробиологии и вирусологии № 1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону) – комплекс новых научных положений, касающихся механизмов участия активных центров цитокинов в активации клеток иммунной системы и антибактериальной активности на примере синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора Zp2;

- в производственную деятельность ООО «НПФ Верта» (Санкт-Петербург), в медицинскую практику работы ООО «Академический инновационный научный центр» (г. Челябинск), ООО «Медицинский лабораторный центр «Фамилия» (г. Челябинск) – в технологических подходах при разработке лекарственных средств местного применения на основе синтетических биологических активных пептидов;

- в медицинскую практику: косметические лечебные средства «АЦЕГРАМ-спрей» и «АЦЕГРАМ-гель» (РОСС RU.AB66.H00566 (№ 0203563) и РОСС RU.AB66.H00565 (№ 0203562) от 30.10.2017, предназначенные для наружного местного использования, которые могут применяться при инфекционно-воспалительных поражениях кожи и слизистых оболочек;

определена перспектива использования полученных данных в процессах создания новых лекарственных препаратов с комбинированными иммуностимулирующими и антибактериальными свойствами, в том числе и против широкого спектра грамотрицательных бактерий;

создана система практических рекомендаций для более эффективного лечения заболеваний инфекционной природы с нарушениями иммунной системы, вызванной грамотрицательными бактериями;

представлены рекомендации по созданию препаратов с комбинированными свойствами, с учетом влияния их на клетки иммунной системы и грамотрицательные бактерии, что позволяет усовершенствовать препараты активных центров цитокинов с плеiotропными свойствами.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: результаты получены на сертифицированном оборудовании, с использованием коммерческих наборов для проведения лабораторных исследований в точном соответствии с инструкциями производителей, с использованием стандартизированных калибровочных и контрольных материалов; методы исследования современны, охватывают все звенья иммунной системы и оценки иммуностимулирующей и антимикробной активности; статистические методы разнообразны и адекватны;

теория построена на использовании известных, проверяемых данных, фактах о наличии плеiotропных эффектов синтетических пептидов активных центров цитокинов при различных воздействиях и повреждениях, в том числе инфекционных, и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

идея исследования **базируется** на анализе экспериментального материала, обобщении литературных данных о необходимости создания новых лекарственных препаратов, обладающих комбинированными иммуностимулирующими и антимикробными свойствами на основе синтетических пептидов активных центров цитокинов;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее, по плейотропным эффектам цитокинов и их синтетических аналогов;

установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, представительные выборочные совокупности с обоснованием экспериментального материала (клетки иммунной системы, грамотрицательные бактерии различных видов), включенных в исследование, и разбивки их на группы, статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0».

Личный вклад соискателя состоит во включенном участии на всех этапах процесса: **непосредственном участии** в получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, личном участии в апробации результатов исследования, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы, соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, концептуальности и взаимосвязи выводов с поставленной целью и задачами.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация Добрыниной М.А.. представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение актуальной научной задачи для отрасли знаний – медицинские науки, по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология, в которой исследованы механизмы взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии.

По актуальности, объему наблюдений, используемым методическим подходам, научной новизне, практической ценности полученных данных и

выводов диссертация полностью соответствует критериям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, 29.05.2017 г. № 650, 01.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант Добрынина М.А. достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология.

Зам. председателя Совета Д 004.027.02
на базе УрО РАН, чл.-корр. РАН,
д.м.н., проф., ЗДН РФ



Б.Г. Юшков

Ученый секретарь Совета Д 004.027.02
на базе УрО РАН, д.м.н., профессор, ЗДН РФ

И.А. Тузанкина

18 декабря 2018 г.