

Отзыв

официального оппонента, доктора биологических наук,

Шаповала Андрея Ивановича,

на диссертацию **Терещенко Валерия Павловича**

**«ИНДУКЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ С ПОМОЩЬЮ
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ ДНК-КОНСТРУКЦИЯМИ,
КОДИРУЮЩИМИ АНТИГЕННЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МОЛЕКУЛ МНС»**

представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность исследования. Формирование иммунологической толерантности необходимо для снижения реакции отторжения трансплантата и реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). В настоящее время выделяют два механизма поддержания иммунологической толерантности: центральный и периферический. Центральный механизм обеспечивается клональной деплецией аутореактивных развивающихся тимоцитов и также их дифференцировкой в FoxP3+ tTreg в тимусе. Периферический механизм поддержания иммунологической толерантности обеспечивается индукцией анергии и апоптоза наивных Т-клеток, и также их дифференцировкой в Т-регуляторные клетки, с помощью дендритных клеток (ДК) в периферических органах иммунной системы. Существуют разные методы для индукции иммунологической толерантности от культивирования дендритных клеток с различными цитокинами до трансфекции ДК плазмидами кодирующими антигенные последовательности молекул МНС. В целом, несмотря на большое количество подходов, предложенных для индукции иммунологической толерантности, достаточно эффективного и клинически приемлемого решения проблем реакции отторжения и РТПХ еще не разработано. Данная работа сконцентрирована на разработке способа подавления трансплантационных реакций путем индукции иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС и IL-10.

Структура и оформление диссертации: Работа написана по классической схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов. Диссертация изложена на 109 страницах, библиографический указатель включает 264 источника, из них

259 зарубежных. Работа иллюстрирована 25 рисунками, включает 2 таблицы. Во «Введении» кратко охарактеризована актуальность темы исследования, обозначены проблемы, сформулированы цели и задачи. Обзор литературы объясняет понятие иммунологической толерантности, а также описывает существующие методы индукции центральной и периферической толерантности. Также в обзоре подробно описаны иммунология и клеточная терапия трансплантационных реакций. Для решения поставленных задач автор использовал широкий спектр методов современных иммунологии и молекулярной биологии. В работе использовались лабораторные животные, на что было получено разрешение этического комитета. В разделе «Результаты» представлены экспериментальные данные, которые логично скомпонованы и проиллюстрированы. Глава «Обсуждение» представляет собой авторскую интерпретацию полученных данных в контексте мировой литературы о природе иммунологической толерантности. Далее следует раздел «Заключение», который удачно резюмирует результаты исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам, которые логично вытекают из цели исследования.

Научная новизна, теоретические и практическая значимость. В работе исследованы механизмы индукции периферической толерантности и разработан способ нагрузки дендритных клеток трансплантационными антигенами с помощью трансфекции ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул главного комплекса гистосовместимости. Автор убедительно показал, что данный способ индукции иммунологической толерантности сопровождается генерацией FoxP3+ Treg и угнетением активации аутологических спленоцитов в ответ на аллогенный стимул *in vitro*. Также в работе показаны различные механизмы подавления трансплантационных реакций с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10 (подавлением цитотоксического иммунного ответа), и дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности МНС (генерация повышенного количества Treg). Было также показано, что способность дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности главного комплекса гистосовместимости, к угнетению РТПХ сопровождается генерацией повышенного количества FoxP3+ Treg в селезенках мышей с индукцией РТПХ. Автором получен патент RU 2717011 C1 «Способ индукции иммунологической толерантности на трансплантационные антигены у млекопитающих», что подтверждает практическую значимость работы и может способствовать трансляции клеточных технологий подавления трансплантационных реакций в клиническую практику.

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 4 оригинальные статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science/Scopus. Получен 1 патент.

Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации. Достоверность и обоснованность данных, полученных в диссертационном исследовании, обеспечивается подробным описанием методов исследования, продуманным дизайном работы, а также приведением статистических методов, использованных для обработки данных. Исследования проведены в соответствии с целью и задачами диссертации. Выводы диссертации в полной мере отображают результаты исследования.

Замечания. В целом принципиальных замечаний к диссертации нет. В процессе ознакомления возник ряд вопросов и замечаний.

1. Почему среди положений выносимых на защиту нет пункта о дендритных клетках, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10? Хотя этот подход подробно обсуждается в тексте диссертации.
2. Описание схемы и примеров гейтирования при цитометрическом фенотипировании дендритных клеток представленных на рисунке 6 стр. 46 не информативны. Сокращения «ЭП» и «неЭП» расшифрованы только в подписях к рис. 13 стр. 58 и не вынесены в общий список сокращений.
3. Почему нельзя было проверить эффективность трансфекции рМНС с помощью проточной цитометрии (стр.57)?
4. Не показана проверка эффективности трансфекции одновременной совместной трансфекции ДК рIL-10 и рМНС.
5. Не понятно описана схема проведения Смешанной Культуры Лимфоцитов, поэтому данные представленные на Рис. 17 трудно интерпретировать. Если спленоциты мышей СВF1 (F1: C57Bl/6×CBA) использовалась как стимуляторы, то клетки от каких мышей использовались в качестве «респондеров»?

Заключение. Кандидатская диссертация Терещенко Валерия Павловича «Индукция иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС», выполненная под руководством д.м.н., профессора Сенникова Сергея Витальевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены

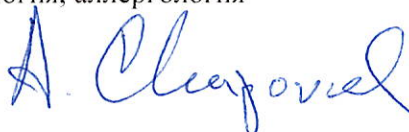
результаты разработки и анализа двух методов направленных на подавление трансплантационных реакций – с помощью IL-10 продуцирующих ДК и с помощью ДК, нагруженных трансплантационными антигенами. В работе использовались современные методы иммунологии и молекулярной биологии, также культивирование клеток *in vitro* и работа с экспериментальными животными, такой широкий набор навыков поможет Валерию Павловичу в дальнейшей работе и в построении самостоятельной научной карьеры.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полное изложение материалов в рецензируемых печатных научных изданиях работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842), предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автору, Терещенко Валерию Павловичу, следует присудить ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

исполнительный директор
Российско-Американского противоракового центра
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет»
доктор биологических наук
03.01.03 – молекулярная биология
14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Шаповал Андрей Иванович



07.10.2020

Адрес организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Алтайский государственный университет" 656049, Алтайский край, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 61. тел. +7 (3852) 291-291, факс +7 (3852) 667-626, e-mail: rector@asu.ru

