

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.001.XX
(24.1.184.01), НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И
КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

Аттестационное дело №

Решение диссертационного совета от 19 декабря 2024 года № 18

О присуждении Фишер Марине Сергеевне, гражданке РФ, учёной степени
кандидата медицинских наук.

Диссертация «Индукция антиген-специфической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, при экспериментальном артрите» по специальности 3.2.7. Иммунология принята к защите 17 октября 2024 года, протокол №17 диссертационным советом Д 001.001.XX (24.1.184.01), на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), почтовый индекс 630099, адрес организации: г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, дом 14, действующего на основании приказа Минобрнауки РФ №209/нк от 14.02.2023 года.

Соискатель Фишер Марина Сергеевна, 10 декабря 1992 года рождения, в 2017 году окончила ФГБОУ ВП «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ с присвоением квалификации «Врач-лечебник» по специальности «Лечебное дело». В 2017-2019 гг. проходила обучение в ординатуре ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» по специальности «Ревматология». С 2019 по 2022 работала в

ревматологическом центре ГАУЗ НСО «ГКП №1» в должности врач-ревматолог. С октября 2020 года работает в лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ. В период подготовки диссертации соискатель Фишер М.С. с 2019 по 2023 год проходила обучение в аспирантуре ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)» и сдала кандидатские экзамены по специальности 3.2.7. Иммунология.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ.

Научный руководитель:

Сенников Сергей Витальевич, доктор медицинских наук, профессор, работает в должности заведующего Лабораторией молекулярной иммунологии НИИФКИ.

Официальные оппоненты:

Королев Максим Александрович, доктор медицинских наук, руководитель «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии генетики» Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН).

Марков Олег Владимирович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН).

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России), г. Москва в своем положительном отзыве, составленном и

подписанном 02.11.2024 (протокол № 9), указывает, что диссертация Фишер М.С. является научно-квалификационной работой, в которой решены актуальные задачи, имеющие существенное значение для иммунологии: разработан протокол получения антиген-специфических толерогенных дендритных клеток, способствующих индукции иммунологической толерантности при экспериментальном артрите; отработаны различные модели экспериментального артрита, схожих по патогенезу с ревматоидным артритом; показана эффективность применения полученных толерогенных клеток при экспериментальном артрите и достигнуто полное отсутствие патологических гистологических изменений в тканях суставов на фоне применяемой клеточной терапии.

В работе был разработан оригинальный протокол получения антиген-специфических толерогенных дендритных, при помощи трансфекции ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа. В исследовании впервые была использована ДНК-конструкция, кодирующая CCR9, для трансфекции миелоидных дендритных клеток, изучена способность полученных клеток индуцировать Т-регуляторные клетки, и оценена миграционная активность к клеткам тимуса. Использование данной конструкции привело к повышению экспрессии CCR9, увеличению миграционной активности миелоидных дендритных клеток к клеткам тимуса, и генерации Т-регуляторных клеток *in vitro*. Впервые было продемонстрировано, что совместное культивирование антиген-специфических Т-регуляторных клеток и CD4⁺спленоцитов (полученных от мышей с антиген-коллаген индуцированным артритом) приводит к достоверному снижению пролиферативной активности CD4⁺Т-клеток в ответ на антиген (коллаген II типа). Впервые показана способность толерогенных дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа, влиять на активность антиген-коллаген индуцированного артрита у

мышей. Результаты показывают, что антиген-специфические дендритные клетки эффективно подавляют проявления экспериментальный артрит у мышей. Полученные антиген-специфические дендритные клетки могут стать основой для создания клеточных вакцин для лечения аутоиммунных заболеваний.

В заключении отмечено, что диссертация Фишер М.С. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции постановления Правительства РФ от октября 2018 г №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Основные положения работы доложены и обсуждены на международных и российских научных форумах и представлены в 6 печатных работах, включая 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Фишер М.С., Курилин В.В., Терещенко В.П., Булыгин А.С., Кузнецова М.С., Ивлева Е.К., Сенников С.В. Экспериментальная модель антиген- и коллаген-индуцированного артрита у мышей. Иммунология. 2022; 43 (2): 157-165. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-2-157-165
2. Фишер М.С., Сенников С.В. Клеточные технологии в иммунотерапии аутоиммунных заболеваний. Иммунология. 2023; 44(6): 813–824. DOI: 10.33029/1816-2134-2023-44-6-813-824
3. Fisher MS, Kurilin VV, Bulygin AS, Shevchenko JA, Philippova JG, Taranov OS, Ivleva EK, Maksyutov AZ and Sennikov SV (2024). Dendritic cells transfected with DNA constructs encoding CCR9, IL-10, and type II collagen demonstrate induction of immunological tolerance in an arthritis model. Front. Immunol. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1447897

На автореферат поступило 3 отзыва от:

1. Ведущего инженера Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), кандидата биологических наук **Ефремова Ярослава Рейнгольдовича**.
2. Ведущего научного сотрудника «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, доктора биологических наук **Орловой Екатерины Григорьевны**.
3. Научного руководителя Научно-технологического парка биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора химических наук, доцент **Тимашева Петра Сергеевича**.

Во всех отзывах отмечается высокая актуальность темы диссертационного исследования, научная и практическая значимость, высокий методический уровень работы. Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что **Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России** является одним из ведущих научно-исследовательских институтов в России, осуществляющих комплексное решение фундаментальных и практических проблем современной иммунологии. Указанное направление отражено в многочисленных публикациях сотрудников института.

Выбор официального оппонента, доктора медицинских наук, **Королева Максима Александровича**, обосновывается его трудами в области изучения роли дендритных клеток при ревматоидном артрите, разработки терапии для аутоиммунных заболеваний, наличием многочисленных научных трудов в данных областях.

Выбор официального оппонента, кандидата биологических наук, **Маркова Олега Владимировича**, обусловлен его научными трудами в области разработки терапевтических методов, основанных на использовании дендритных клеток.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Доказано, что трансфекция ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и коллаген II типа, дендритных клеток способствует снижению уровней экспрессии маркеров зрелости CD80, CD86 и H-2Db, повышению экспрессии CCR9, а также продукции IL-10, что говорит о толерогенном фенотипе полученных дендритных клеток.

Установлено, что трансфекция дендритных клеток ДНК конструкцией, кодирующей рецептор хемокина CCR9, приводит к повышению миграционной способности к клеткам тимуса *in vitro*, а также к индукции Т-регуляторных клеток при со-культивировании с клетками тимуса, что указывает на миграционный и толерогенный потенциал полученных дендритных клеток.

Установлено, что дендритные клетки, одновременно трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа, способны индуцировать Т-регуляторные клетки в культуре спленоцитов и дендритных клеток, а также подавлять пролиферативную активность CD4⁺Т-клеток в ответ на коллаген II типа.

Доказано, что введение толерогенных дендритных клеток, одновременно трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-

10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа, лабораторным животным с антиген-коллаген индуцированным артритом позволяет снизить припухлость лап экспериментальных животных, уменьшить уровень антител к коллагену II типа и вызвать регресс гистологических изменений в суставах.

Доказано, что дендритные клетки, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа, способны к индукции антиген-специфической толерантности в модели антиген-коллаген индуцированного артрита, посредством генерации T-регуляторных клеток, продукции IL-10 и TGF- β CD4⁺T-клетками, и подавлению коллаген-индуцированной пролиферативной активности CD4⁺T-клеток, и вызывают уменьшение припухлости лап мышей, снижают уровень антител к коллагену II типа и восстанавливают нормальную гистологическую картину суставов.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в доказательстве принципиальной возможности использования дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, для антиген-специфического подавления аутоиммунных реакций, что является новым подходом к индукции иммунологической толерантности при аутоиммунных состояниях. Представлены данные о получении антиген-специфических дендритных клеток, с использованием ДНК-конструкций, кодирующих IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа. В работе проводится сравнительная характеристика толерогенных свойств антиген-специфических и неспецифических дендритных клеток. Показана эффективность антиген-специфических дендритных клеток в коррекции экспериментального артрита у мышей. Материалы, полученные в результате исследования, могут иметь практическую значимость для восстановления иммунологической толерантности к аутоантигенам при аутоиммунных заболеваниях.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что

В ходе исследований был разработан протокол получения антиген-специфических толерогенных дендритных клеток, при помощи трансфекции ДНК-конструкциями. Дендритные клетки, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими эпитопы коллагена II типа, IL-10 и CCR9, способствуют развитию антиген-специфической толерантности, уменьшают тяжесть экспериментального артрита за счет исследованных механизмов: индукции Т-регуляторных клеток и CD4⁺Т-клеток, продуцирующих IL-10, TGF-β.

В исследовании представлен подход, позволяющий модулировать иммунные реакции и воздействовать на аутоиммунные состояния при помощи дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что проведенные исследования полностью соответствуют поставленной цели и задачам диссертации и выполнены в полном объеме. Достаточная выборка, продуманный дизайн, включающий исследования *in vitro* и *in vivo*, соответствующая поставленным задачам статистическая обработка полученных данных свидетельствуют о достоверности и обоснованности полученных результатов. Все положения, выносимые на защиту, подтверждены полученными результатами. Выводы подтверждены фактическим материалом и отражают суть проведенных исследований.

Личный вклад соискателя: Автор участвовал в разработке идеи исследования и дизайна всех экспериментов. Результаты, представленные в работе, получены автором лично. Выделение и культивирование клеток, оценка пролиферативного ответа, оценка экспрессии маркеров зрелости, продукции цитокинов, миграционной активности клеток, постановка модели экспериментального артрита, все манипуляции с лабораторными животными,

проводилась лично соискателем на базе лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ. Автором лично заполнялись все протоколы исследования, выполнена статистическая обработка полученных результатов и интерпретация экспериментальных данных. Подготовка всех публикаций по выполненной работе проведена лично автором.

Диссертационная работа Фишер М.С. «Индукция антиген-специфической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, при экспериментальном артрите», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельным завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком методическом уровне, и представляющим интерес для решения важной проблемы современной иммунологии в области разработки клеточной иммунотерапии аутоиммунных заболеваний.

По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа М.С. Фишер полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 2 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 1 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

На заседании 19 декабря 2024 года диссертационный совет принял решение № 18 присудить Фишер Марине Сергеевне ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология. Заседание диссертационного совета Д 001.001.XX (24.1.184.01) проходило в очном режиме с присутствием 13 человек из 17 человек, входящих в состав диссертационного совета.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 5 докторов наук по профилю рассматриваемой работы по специальности 3.2.7. Иммунология, участвовавших в заседании из 17 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 13, против присуждения ученой степени – 0, воздержались – 0.

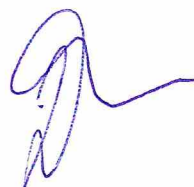
Председатель диссертационного
совета Д 001.001.XX (24.1.184.01)

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН



Козлов Владимир
Александрович

Ученый секретарь диссертационного
совета Д 001.001.XX (24.1.184.01),
кандидат биологических наук



Облеухова Ирина
Александровна

19 декабря 2024 года

Литература передана Кернов В.А.
Облеухова И.А.
Завершено Ученый секретарь
Ефрат К.А.
20.12.2024г.

