

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.001.01 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 26 ноября 2020 № 272

О присуждении Терещенко Валерию Павловичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Индукция иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС» по специальности 14.03.09 – «Клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 24 сентября 2020 года, протокол № 268 диссертационным советом Д001.001.01 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 № 714 от 02.11.2012 года.

Соискатель Терещенко Валерий Павлович, 1991 года рождения, окончил в 2014 году ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» с присвоением квалификации «Врач. Лечебное дело».

С 2016 по 2019 год проходил обучение в аспирантуре (очная форма) ФГБНУ НИИФКИ; с 2019 года по настоящее время занимает должность младшего научного сотрудника лаборатории молекулярной иммунологии.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной иммунологии отдела экспериментальной иммунологии НИИФКИ.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИФКИ Сенников Сергей Витальевич.

Официальные оппоненты:

1. **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.
2. **Шаповал Андрей Иванович**, доктор биологических наук, исполнительный директор Российско-американского противоракового центра, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном директором, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН Хаитовым Мусой Рахимовичем, указала, что диссертационная работа Терещенко Валерия Павловича является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований, решены задачи, важные для фундаментальной и клинической иммунологии, а именно: разработан новый метод индукции иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС, для антиген-специфичного подавления трансплантационных реакций, частично охарактеризован механизм индукции иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные

последовательности молекул МНС.

Диссертация Терещенко В.П. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016г. №335), а её автор достоин присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология».

По теме диссертации соискатель имеет 13 печатных работ; в том числе 4 статьи в журналах, индексируемых международных базах данных Web of Science и Scopus, 8 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций и 1 патент Российской Федерации.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Khantakova J., Silkov A., **Tereshchenko V.**, Gavrilova E., Maksyutov R., Sennikov S. Transfection of bone marrow derived cells with imminoregulatory proteins. // **Cytokine**. – 2018. – Vol. 108. – P. 82-88. doi: 10.1016/j.cyto.2018.03.028
2. Khantakova J., **Tereshchenko V.**, Kurilin V., Silkov A., Maksyutov A., Lopatnikova J. et al. Comparison of CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg Induction by pIL-10 Transfected Dendritic Cells in Different Mouse Strains. // **J Interferon Cytokine Res.** – 2019. – Vol. 39(9). – P. 531-538. doi: 10.1089/jir.2019.0031
3. Sennikov S., **Tereshchenko V.**, Kurilin V., Shevchenko J., Lopatnikova J., Silkov A. et al. Dendritic Cells Transfected with MHC Antigenic Determinants of CBA Mice Induce Antigen-Specific Tolerance in C57Bl/6 Mice. // **Journal of Immunology Research**. – 2020. - Article ID 9686143. – P. 13. doi.org/10.1155/2020/9686143.
4. Kurilin V., Khantakova J., **Tereshchenko V.**, Lopatnikova J., Obelkova I., Sennikov S. The Effects of Immunosuppressive Factors on Primary Dendritic Cells from C57BL/6 and CBA Mice. // **Journal of Immunology Research**. – 2019. -

5. Пат. RU 2717011 C1 Российская Федерация, СПК А61К 35/15. Способ индукции иммунологической толерантности на трансплантационные антигены у млекопитающих. / Сенников С.В., Максютов А.М., Лопатникова Ю.А., Хантакова Ю.Н., Курилин В.В., Силков А.Н., Шевченко Ю.А., **Терещенко В.П.**; Патентообладатель ФГБНУ «НИИФКИ», опубл. 17.03.2020, Бюл. №8. – 13с.

Все основные результаты, представленные на защиту, опубликованы в оригинальных статьях в рецензируемых изданиях. Основные экспериментальные результаты получены при непосредственном участии автора, статистическая обработка результатов выполнена автором лично. Представление результатов в виде публикаций выполнены в том числе соискателем лично.

На автореферат поступило 3 отзыва:

1. кандидата медицинских наук, врача, сердечно-сосудистого хирурга ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, **Фомичева Алексея Вячеславовича.**
2. доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника лаборатории инфекционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, **Якушенко Елены Владимировны;**
3. доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры фундаментальной медицины института медицины и психологии ФГАОУ ВО «Новосибирского национального исследовательского государственного университета», **Ларионова Петра Михайловича.**

Во всех отзывах отмечается высокая актуальность темы диссертационного исследования, научная и практическая значимость, высокий методический уровень, адекватный подход к достижению

поставленной цели, с сочетанием в исследованиях методов *in vivo* и *in vitro*.
Указывается, что

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что **ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России** является одним из ведущих научно-исследовательских институтов России, осуществляющим комплексное решение фундаментальных и практических проблем современной иммунологии. В институте активно проводятся фундаментальные исследования по изучению механизмов индукции иммунологической толерантности, свойств Т-клеточного иммунного ответа при трансплантации и характеристик Treg-клеток при иммунотерапии. Также, институт занимается разработкой методов клеточной иммунотерапии и методов генетической модификации клеток.

Выбор официального оппонента, кандидат биологических наук, **О.В. Маркова**, обосновывается его работами, посвященными разработке противоопухолевых вакцин на основе генетически модифицированных дендритных клеток.

Выбор официального оппонента, доктора биологических наук, **А.И. Шаповала**, обосновывается его работами, посвященными изучению регуляции адаптивного иммунного ответа с помощью костимуляторных и коингибиторных молекул на антиген-представляющих клетках.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Доказано, что фенотипически незрелые дендритные клетки мышей, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10 или антигенные последовательности МНС, индуцируют экспрессию, соответственно, FoxP3 и IL-10 в аутологических спленоцитах.

Доказано, что незрелые дендритные клетки мышей C57Bl/6, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, обуславливают подавление пролиферации аутологических спленоцитов *in vitro* в ответ на стимуляцию спленоцитами мышей CBA и BALB/c, *in vivo* снижают

активность реакции «трансплантат против хозяина» в мышах CBF1 (F1: CBAxС57Bl/6) и BALB/c и увеличивают время отторжения кожного лоскута от мышей CBA и BALB/c, что говорит о неспецифичном подавлении иммунных реакций с их помощью.

Доказано, что незрелые дендритные клетки мышей C57Bl/6, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности МНС I класса мышей CBA, обуславливают подавление пролиферации аутологичных спленоцитов *in vitro* в ответ на стимуляцию спленоцитами мышей CBA, но не BALB/c, *in vivo* снижают активность реакции «трансплантат против хозяина» в мышах CBF1 (F1: CBAxС57Bl/6), но не в BALB/c, и увеличивают время отторжения кожного лоскута от мышей CBA, но не BALB/c, что говорит о антиген-специфичном подавлении иммунных реакций с их помощью.

Доказано, что угнетение реакции «трансплантат против хозяина», обусловленное дендритными клетками, трансфицированными ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, сопровождается преимущественно подавлением цитотоксического иммунного ответа, а дендритными клетками, трансфицированными ДНК-конструкциями, кодирующими антигенными последовательностями МНС I класса – преимущественно генерацией Treg клеток, что свидетельствует о различиях в механизмах подавления трансплантационных реакций данными дендритными клетками.

На мышинной модели **разработан** подход к индукции иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС I, что подтверждено антиген-специфичным подавлением пролиферации аутологичных спленоцитов *in vitro* и реакций отторжения кожного лоскута, «трансплантат против хозяина» со снижением генерации Treg клеток *in vivo*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Реализован способ нагрузки дендритных клеток трансплантационными антигенами с помощью трансфекции ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул главного комплекса гистосовместимости;

Показана принципиальная возможность использования ДК, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС, для антиген-специфичного подавления трансплантационных реакций, таких как реакция отторжения трансплантата и РТПХ, что является новым подходом к индукции иммунологической толерантности;

Выявлен различный характер подавления трансплантационных реакций с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, и дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности МНС. Так, неспецифичное подавление реакции «трансплантат против хозяина» достигаемое с помощью введения культур, содержащих дендритные клетки, трансфицированные ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, сопровождается подавлением цитотоксического иммунного ответа, а специфичное подавление РТПХ с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности МНС, сопровождается генерацией повышенного количества Treg.

Применительно к проблематике диссертации результативно:

использован комплекс современных иммунологических методов, включающих выделение, фенотипирование и культивирование иммунокомпетентных клеток, электропорацию клеток, многоцветную проточную цитофлуориметрию, иммуноферментный анализ, смешанную культуру лимфоцитов, моделирование реакции отторжения и реакции «трансплантат против хозяина» *in vivo*;

изложены результаты экспериментальных исследований, доказывающие возможность антиген-специфичного снижения трансплантационных реакций с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС;

изучены механизмы подавления реакции «трансплантат против хозяина» с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС и IL-10.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что

изученный подход индукции иммунологической толерантности на трансплантационные антигены с использованием заранее разработанных и сконструированных ДНК-конструкций, позволяет отказаться от использования донорского материала, а также может быть эффективен в снижении выраженности нежелательных побочных эффектов системной иммуносупрессивной терапии, что может способствовать трансляции клеточных технологий подавления трансплантационных реакций в клиническую практику.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном оборудовании и с использованием сертифицированных реагентов, работа выполнена на высоком методическом уровне, достаточна по объему материала. Теория построена на доказанных и проверяемых фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации. Идеи базируются на обобщении литературных данных, а также анализе результатов, полученных в репрезентативном количестве наблюдений. Достоверность результатов определяется методически правильно построенным ходом исследования, использованием современных и адекватных методик сбора и статистической обработки исходной информации. Выводы соответствуют поставленным задачам, основаны на фактических данных, вытекают из сути работы и отражают ее содержание.

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном участии в получении исходных данных и экспериментальной работе. Автором был проведен анализ имеющейся научной информации по теме исследования. Экспериментальная работа выполнена при непосредственном участии автора и включала выделение, культивирование, электропорацию и фенотипирование дендритных клеток методом проточной цитометрии, иммуноферментный анализ, постановку смешанных культур лимфоцитов с оценкой пролиферации, моделирование реакций отторжения и «трансплантат против хозяина» с оценкой выраженности их течения. Статистическая обработка и интерпретация экспериментальных данных проведена автором лично. Научные положения и выводы, сделанные в диссертационной работе, сформулированы автором. Подготовка основных публикаций, отражающих результаты диссертационного исследования, проведена лично автором или при непосредственном его участии.

Диссертационная работа Терещенко Валерия Павловича «Индукция иммунологической толерантности с помощью дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими антигенные последовательности молекул МНС» по актуальности избранной темы, методическому уровню, поставленным задачам, новизне и значимости полученных результатов, обоснованности научных выводов полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, с изм., внесенными Постановлением Правительства РФ от 26.05.2020 N 751). На заседании 26 ноября 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Терещенко В.П. ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заседание диссертационного совета Д 001.001.01 проходило в интерактивном удаленном режиме с очным присутствием - 9 человек и дистанционным – 8 человек из 20 человек, входящих в состав совета.

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности 14.03.09 - «Клиническая иммунология, аллергология» (медицинские науки), участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени 17, против присуждения учёной степени - 0, воздержались- 0 .

Председатель диссертационного
совета,
доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

Ученый секретарь диссертационного
совета, кандидат биологических наук


Козлов Владимир
Александрович

Облеухова Ирина
Александровна

26 ноября 2020 года