

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 09 декабря 2021 № 283

О присуждении Жуковой Юлии Владимировне, гражданке РФ, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация **«КО-ЭКСПРЕССИЯ И СРЕДНЕЕ КОЛИЧЕСТВО РЕЦЕПТОРОВ К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА НА СУБПОПУЛЯЦИЯХ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК В НОРМЕ И У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ»** по специальности 14.03.09 — «Клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 9 декабря 2021 года, протокол № 282 диссертационным советом Д 001.001.01 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 Минобрнауки России № 714 от 02.11.2012 года.

Соискатель Жукова Юлия Владимировна, 1982 года рождения, окончила в 2005 году ГБОУ ВПО Новосибирскую государственную медицинскую академию Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию с присвоением квалификации «Врач» по специальности «Лечебное дело». В 2005-2006 гг. проходила обучение в интернатуре ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России по специальности «Терапия». С 2006 по 2017гг. работала врачом-кардиологом в отделении кардиологии МБУЗ ГК БСМП №2.

В 2017-2021 гг. прошла обучение в аспирантуре ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)» по специальности «Клиническая иммунология, аллергология» (очная форма). С 2017 года по настоящее время занимает должность лаборанта –исследователя в 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. **Щелкунов Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела геномных исследований Федерального бюджетного учреждения науки Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

2. **Королев Максим Александрович**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией патологии соединительной ткани, заместитель руководителя по научной и клинической работе Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии филиала Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ) в своем положительном заключении, составленном и подписанном заведующим отделом иммунофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга доктором медицинских наук, профессором Шерстобоевым Евгением Юрьевичем и утвержденным директором Томского НИМЦ, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом

РАН Степановым Вадимом Анатольевичем, указала, что диссертационная работа Жуковой Юлии Владимировны является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований, решены задачи, важные для фундаментальной и клинической иммунологии, а именно, показано, что плотность экспрессии рецепторов к TNF α первого и второго типа на дубль-позитивных клетках у здоровых доноров выше по сравнению с плотностью данных рецепторов на клетках, экспрессирующих только один из типов рецепторов. Цитотоксические и хелперные клетки памяти отличаются наибольшим относительным содержанием клеток, экспрессирующих рецептор TNF 2-го типа в сочетании с высоким средним количеством второго типа рецептора на клетках данных субпопуляций. Для пациентов с ревматоидным артритом характерно перераспределение соотношения рецепторов по большинству субпопуляций, что проявляется более низким относительным содержанием рецепторов 2-го типа и более высоким рецептора 1-го типа. По количеству рецепторов наибольшие отличия наблюдаются в популяциях клеток памяти у пациентов с РА, а именно, более высокое количество рецепторов 2-го типа, чем у здоровых доноров. В работе проведена оценка ко-экспрессии рецепторов к TNF α у пациентов, прошедших терапию генно-инженерным препаратом ритуксимабом, которая показала увеличение относительного содержания дубль-негативных клеток в популяциях моноцитов, субпопуляциях активированных, хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также цитотоксических клеток памяти после проводимой терапии.

Принципиальных замечаний нет, но есть замечания оформительского плана: пропущенные знаки препинания, отсутствие ссылок на данные литературы при обсуждении полученных данных в автореферате, библиографический список включает 285 источников, но лишь 11% из них опубликованы за последние 5 лет.

Диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции от 01.10.2018 г. с изменениями от 11.09.21 г, № 335), а ее автор достоин присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 — Клиническая иммунология, аллергология.

По теме диссертации опубликовано 9 работ, в том числе 6 статей в изданиях, рекомендованных ВАК, индексируемых в базах данных Web of Science/Scopus. Получен 1 патент

1.Сенников С.В., Альшевская А.А., **Жукова Ю.В.**, Беломестнова И.А., Караулов А.В., Лопатникова Ю.А. Плотность экспрессии рецепторов к иммунорегуляторным медиаторам как модулирующий компонент биологических эффектов медиаторов на клетку. Часть 1 // **Медицинская иммунология**. - 2019 – Т.21 - №2 - С. 209-220

2.Сенников С.В., Альшевская А.А., **Жукова Ю.В.**, Беломестнова И.А., Караулов А.В., Лопатникова Ю.А. Плотность экспрессии рецепторов к иммунорегуляторным медиаторам как модулирующий компонент биологических эффектов медиаторов на клетку (ЧАСТЬ 2). // **Медицинская иммунология** - 2019; - Т.21 - №3 – С.379-396.

3.Альшевская А.А., Беломестнова И.А., **Жукова Ю.В.**, Чумасова О.А., Шкаруба Н.С., Сизиков А.Э., Сенникова Ю.А., Воробьева О.П. Ко-экспрессия рецепторов к фактору некроза опухоли альфа в субпопуляциях Т-клеток при ревматоидном артрите // **Российский иммунологический журнал** - 2019 – Т.22 - №2-2 – С.707-709.

4.Sennikov SV, Alshevskaya AA, **Zhukova J**, Belomestnova I, Karaulov AV, Lopatnikova JA. Expression Density of Receptors as a Potent Regulator of Cell Function and Property in Health and Pathology // **Int Arch Allergy Immunol.** – 2019 – Vol.78 - №2 – P.182–191

5. Sennikov S, Alshevskaya A, **Zhukova J**, Belomestnova I, Karaulov A, Evsegneeva I, Lopatnikova J. Co-expression of membrane-bound TNF-alpha type 1

and 2 receptors differ in the subsets of immunocompetent cells. // **Immunol Lett.** – 2019 – Vol. 207 – P.1-5.

6. Alshevskaya A, Lopatnikova J, **Zhukova J**, Chumasova O, Shkaruba N, Sizikov A, Evsegneeva I, Gladkikh V, Karaulov A, Sennikov SV. Co-expression profile of TNF membrane-bound receptors type 1 and 2 in rheumatoid arthritis on immunocompetent cells subsets// **Int. J. Mol. Sci.** – 2020 – Vol,21 -№1 – P.288.

7. Патент RU2735738C1 от 06.11.2020 Способ ранней диагностики ревматоидного артрита С.В. Сенников, А.А. Альшевская, Ю.А. Лопатникова, **Ю.В. Жукова**, Ф.Д. Киреев, А. Э Сизиков, Н.С. Шкаруба, О.А. Чумасова.

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 соискателем лично.

На автореферат поступило 3 отзыва:

1. исполнительного директора Российско-Американского противоракового центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный университет» Министерства науки и Высшего образования Российской Федерации, доктора биологических наук **Шаповала Андрея Ивановича**;

2. директора Центра иммунологии и клеточных биотехнологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства науки и Высшего образования Российской Федерации, доктора медицинских наук **Литвиновой Ларисы Сергеевны**;

3. заместителя директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук **Шварца Якова Шмульевича**.

Во всех отзывах отмечается высокая актуальность темы диссертационного исследования, научная и практическая значимость, высокий методический уровень, адекватный подход к достижению поставленной цели. Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» **Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»** является одним из ведущих научно-исследовательских институтов России, осуществляющих комплексное решение фундаментальных и практических проблем современной иммунологии. Указанное направление отражено в многочисленных публикациях научных сотрудников.

Выбор официального оппонента, доктора биологических наук, профессора **Щелкунова Сергея Николаевича**, обосновывается его работами, посвященными изучению блокаторов TNF α при аутоиммунных заболеваниях и применению плазмидных конструкций для лечения ревматоидного артрита на моделях лабораторных животных.

Выбор официального оппонента, кандидата медицинских наук, **Королева Максима Александровича**, обосновывается его работами, посвященными изучению механизмов патогенеза и патогенетической терапии ревматоидного артрита.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Доказано, что у здоровых доноров среди субпопуляций Т-лимфоцитов наибольшее относительное содержание клеток, экспрессирующих рецептор второго типа для TNF α (TNFR2), наблюдалось среди цитотоксических (CD8CD45R0+) и хелперных клеток памяти (CD4CD45R0+), что сочеталось с высоким средним количеством этого рецептора на клетках данных субпопуляций, при этом относительное содержание клеток, экспрессирующих

рецептор первого типа (TNFR1) было низким, но сочеталось с высоким средним количеством этого рецептора на клетках.

Доказано, что у доноров среднее число TNFR1 и TNFR2 выше на дубль-позитивных клетках всех исследованных субпопуляций по сравнению с плотностью соответствующих рецепторов на клетках, экспрессирующих только один из типов рецепторов.

Доказано, что для пациентов с ревматоидным артритом характерно более низкое среднее количество TNFR2 и более высокое – TNFR1 во всех исследованных субпопуляциях по сравнению с соответствующими показателями здоровых доноров, при этом, наиболее значимые отличия установлены для клеток памяти как среди CD4+, так и среди CD8+ Т клеток.

Доказано, что у пациентов с обострением РА проведение терапии ритуксимабом сопровождается увеличением относительного содержания дубль-негативных клеток в популяциях моноцитов, активированных Т-клеток, хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также цитотоксических клеток памяти, что свидетельствует о влиянии проводимой терапии на ко-экспрессию рецепторов.

Доказано, что ко-экспрессия и среднее число TNFR1 и TNFR2 различаются между популяциями моноцитов, Т и В-лимфоцитов и субпопуляциями хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов и регуляторных Т клеток как в норме, так и у пациентов с РА.

Установлено, что у пациентов с РА показатели экспрессии и ко-экспрессии рецепторов для TNF α , коррелируют с клиническими и лабораторными показателями активности заболевания, что позволило построить математическую модель диагностики РА на основе объективных лабораторных данных, с чувствительностью 93% и специфичностью 90%.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Полученные данные существенно расширяют современные представления об особенностях экспрессии мембраносвязанных рецепторов к TNF α на различных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток в норме и при

ревматоидном артрите, а также обосновывают перспективы их исследования в качестве маркеров прогноза или для разработки терапевтических подходов.

Показано, что популяции иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоциты, моноциты) у здоровых доноров значительно различаются по ко-экспрессии рецепторов 1 и 2 типа к TNF α . Наличие рецепторов обоих типов на поверхности клеток ассоциировано с повышением плотности экспрессии рецепторов обоих типов. При этом показана вариабельность ко-экспрессии TNFR1 и TNFR2 в субпопуляциях Т-лимфоцитов.

Показано, что у пациентов с ревматоидным артритом популяции иммунокомпетентных клеток значительно различаются по ко-экспрессии TNFR1 и TNFR2 как между собой, так и по сравнению с показателями здоровых доноров. **Установлено**, что моноциты, активированные Т-хелперные клетки и Т-регуляторные клетки экспрессируют наибольшее количество рецепторов обоих типов среди всех исследованных субпопуляций у пациентов с РА. Кроме того, в популяциях Т-регуляторных клеток и Т-хелперных клеток памяти подавляющее большинство клеток (более 95%) экспрессирует хотя бы один из типов рецепторов к TNF, в то время как наибольшее относительное содержание дубль-позитивных клеток характерно для активированных цитотоксических Т-лимфоцитов.

Выявлено, что у пациентов с РА проведение патогенетической терапии ритуксимабом сопровождается увеличением относительного содержания дубль-отрицательных клеток в популяциях моноцитов, активированных хелперных и цитотоксических Т лимфоцитов, а также цитотоксических клеток памяти, что свидетельствует о влиянии проводимой терапии на ко-экспрессию рецепторов.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных иммунологических методов, включающих выделение, фенотипирование иммунокомпетентных клеток, многоцветную проточную цитофлуориметрию с использованием калибровочных частиц для пересчета интенсивности флуоресценции.

Изложены результаты экспериментальных исследований, показывающие значимость анализа ко-экспрессии и среднего количества рецепторов к TNF α для оценки потенциальных возможностей субпопуляций иммунокомпетентных клеток в норме и роли этих показателей в патогенезе ревматоидного артрита.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается построением математической модели для диагностики ревматоидного артрита, в соответствии с которой три показателя - количество TNFR2 на CD3+ Т-лимфоцитах, TNFR1 - на Т-хелперных клетках памяти (CD4+CD45R0+) и относительное содержание TNFR1+клеток среди наивных Т-хелперных клеток (CD4+CD45RA+) – позволяют выявить пациентов с РА с чувствительностью 93% и специфичностью 90% (Патент RU2735738C1 от 06.11.2020).

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 на 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 фенотипирование клеток методом проточной цитометрии, определение ко-экспрессии рецепторов и среднего количества рецепторов к TNF α с использованием калибровочных частиц. Статистическая обработка и интерпретация экспериментальных данных проведена автором лично. Консультирование по вопросам статистической обработки осуществлялось сотрудниками лаборатории вычислительной физики ФГБУ «Институт вычислительной математики и математической геофизики» В. С. Гладких. 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 Жуковой Юлии Владимировны «Ко-экспрессия и среднее количество рецепторов к фактору некроза опухоли альфа на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток в норме и у пациентов с ревматоидным артритом» 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 сентября 2013 г. № 842 (в редакции от 01.10.2018г. с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 11.09.21 г. № 335).

На заседании 9 декабря 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Жуковой Ю.В. ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Заседание диссертационного совета Д 001.001.01 проходило в очном режиме с присутствием – 16 человек из 20 человек, входящих в состав диссертационного совета.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по профилю рассматриваемой

работы, по специальности 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология», участвовавших в заседании, из 16 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени - 16, против присуждения учёной степени - 0, воздержались – 0.

Председатель диссертационного
совета Д 001.001.01
акад. РАН, проф., д-р мед.наук



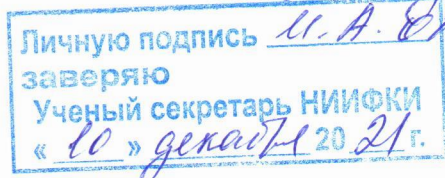
Козлов Владимир
Александрович

ученый секретарь диссертационного
совета Д 001.001.01
канд. биол. наук



Облеухова Ирина
Александровна

09.12.2021 г.



В. А. Козлов
И. А. Облеухова



Е. В. Харченко Е. Д.