

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050
Телефон (3822) 53 04 23;
Факс (3822) 53 33 09
e-mail: office@ssmu.ru
http://www.ssmu.ru
ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251
ИНН 7018013613 КПП 701701001

Утверждаю
Ректор
д-р мед. наук, доцент

Е.С. Куликов

2022



13.07.2022 № 11

ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической значимости
диссертационной работы Шнайдер Марии Александровны «Влияние
модуляторов метилирования ДНК на свойства фибробластоподобных
синовальных клеток больных ревматоидным артритом *in vitro*» на
соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Шнайдер М.А. посвящена одной из актуальных
проблем современной медицины и клинической иммунологии.

Ревматоидный артрит (РА) относится к хроническим аутоиммунным
заболеваниям, основным проявлением которого является полиартрит с
преимущественным поражением мелких суставов.

С начала 2000-х годов в практике врачей-ревматологов появились новые
классы эффективных препаратов – генно-инженерные ингибиторы TNFα и IL-
6, низкомолекулярные ингибиторы янус-киназ. Однако проблеме лечения РА

нельзя считать решенной. Подавляющее большинство пациентов с течением времени прекращает прием генно-инженерных препаратов из-за отсутствия эффективности или побочных эффектов. С момента появления в клинической практике новых классов препаратов частота развития инвалидности и смертности у больных РА не изменились. Очевидно, что необходим поиск новых подходов к терапии РА.

Так, одной из стратегий лечения может быть таргетная терапия, направленная на определенный тип клеток, принимающих участие в патогенезе РА.

Независимо от гистологического фенотипа РА, в воспаленной синовиальной оболочке у всех пациентов выявляется активация и пролиферация фибробластоподобных синовиальных клеток (ФСК). Длительное время ФСК больных РА рассматривались как клетки-эффекторы, участвующие в разрушении хряща и костной ткани. Однако полученные в последние годы данные позволили многим исследователям отнести ФСК к клеткам врожденного иммунитета, участвующим в патогенезе РА, начиная с ранних стадий заболевания.

ФСК больных РА обладают рядом уникальных особенностей — автономностью (независимостью от внешних сигналов), способностью к инвазивному росту и миграции в интактные суставы, что обуславливает полиартикулярный характер поражения. Установлено, что изменения свойств ФСК больных РА обусловлены эпигенетическими нарушениями, в частности гипометилированием ДНК. Можно предположить, что вмешательства, направленные на коррекцию эпигенетических нарушений в ФСК, могут быть новой перспективной стратегией терапии РА.

Таким образом, актуальность представленной работы, изучающей воздействие различных модуляторов метилирования ДНК на свойства ФСК больных РА, не вызывает сомнений.

Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Шнайдер М.А. выполнена в лаборатории клинической иммунофармакологии по плану НИР ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» и посвящена исследованию влияния метилирующих и деметилирующих веществ на цитокин-продуцирующую функцию, способность к миграции и инвазии ФСК больных ревматоидным артритом. Тема диссертации полностью соответствует паспорту научной специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки).

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне, представляет собой завершенное исследование. В работе использованы современные иммунологические методы с автоматизированной оценкой результатов. Определенные автором задачи сформулированы корректно и направлены на последовательное и логичное достижение цели. Цель и задачи исследования достигнуты полностью. Оптимальные методы исследования, достаточный объем и тщательный анализ экспериментальных данных, корректные методы статистического анализа свидетельствуют о достоверности полученных результатов. Выносимые на защиту положения и выводы соответствуют полученным результатам, сформулированы конкретно и не содержат скрытой информации.

Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Соискателем впервые показано, что донатор метильных групп S-аденозилметионин (SAME) снижает *in vitro* секрецию провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-17, IL-18) ФСК у больных РА. Впервые установлено

действие модуляторов метилирования ДНК на функционирование системы RANKL-OPG в культурах ФСК больных РА, в частности выявлено, что SAME и генистеин уменьшают продукцию остеопротегерина (OPG) и активатора рецептора лиганда ядерного фактора каппа- β (RANKL). Впервые продемонстрировано увеличение образования колониестимулирующего фактора гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF) при добавлении SAME в культуры ФСК больных РА. Впервые показаны способность к миграции и инвазии у 40-45% ФСК больных РА, снижение миграционной и инвазивной активности ФСК при добавлении SAME, гидралазина и генистеина в клеточные культуры.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость диссертационной работы Шнайдер М.А. заключается в получении новых знаний о патогенезе РА на основе оценки свойств ФСК, в частности их способности к спонтанной и IL-1 β -стимулированной продукции провоспалительных цитокинов, остеопротегерина и RANKL. Доказано, что выявленные изменения могут быть обратимыми после воздействия донатора метильной группы SAME и биофлаваноида генистеина, одним из механизмов действия которых является влияние на эпигеном ФСК. Полученные данные раскрывают новые механизмы «стабильно импринтированного» фенотипа ФСК, обусловленного гипометилированием ДНК.

Показано, что 45-50% ФСК могут участвовать в процессах миграции и инвазии. Установлена способность различных модуляторов метилирования ДНК уменьшать интенсивность миграции и инвазии ФСК.

Практическое значение работы заключается в возможности использовать ФСК больных РА в качестве мишени для таргетной терапии, а культуру ФСК – как модель доклинического скрининга новых лекарственных средств для терапии РА. Соискателем изучен обратимый механизм прогрессии

РА и вовлечения в процесс интактных суставов, обусловленный способностью ФСК к миграции и инвазии через коллагеновую мембрану, которая существенно снижается под влиянием модуляторов метилирования ДНК.

Апробация результатов диссертационной работы

Основные положения диссертации Шнайдер М.А. докладывались и обсуждались на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири» (Новосибирск, 2015 г.) и Объединённом иммунологическом форуме (Новосибирск, 2019 г.). По теме НИР опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов диссертационных работ на соискание учёной степени кандидата наук.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Научные положения и выводы диссертационной работы Шнайдер М.А. представляют интерес для широкого круга специалистов в области иммунологии и аллергологии, ревматологии, клеточной биологии, патофизиологии и др. Материалы диссертации могут использоваться в программах обучения студентов медицинским и естественным наукам, подготовке врачей-ординаторов, а также представлять интерес для научных организаций, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями в области иммунологии, клеточной биологии и клеточной терапии, ревматологии.

Личный вклад соискателя в работу состоит в изучении и анализе литературы по теме НИР, участии в разработке дизайна, планировании и проведении исследований, статистическом анализе и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций и оформлении диссертации.

Диссертационная работа Шнайдер М.А. имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списков сокращений литературы. Материал диссертации изложен на 111 страницах машинописного текста, включающего 4 таблицы, 31 рисунок и 2 микрофотографии. Прилагаемая библиография содержит ссылки на 214 литературных источников, в том числе 210 иностранных авторов.

Во введении автор четко излагает актуальность выбранной темы, цель, задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, ее основные положения. Положения, выносимые на защиту, кратко отражают наиболее существенные результаты проведенного исследования. Цель исследования сформулирована корректно и направлена на изучение влияния веществ, модулирующих метилирование ДНК, на функциональные свойства ФСК больных РА с обоснованием возможности клинического применения этой группы соединений. Поставленные задачи соответствуют цели и в достаточной мере служат ее достижению. Обзор литературы соответствует теме диссертации, раскрывает состояние проблемы и пробелы в современных знаниях, убедительно обосновывает проведение предпринятого исследования, демонстрирует глубокое понимание актуальности проблемы автором работы. Материалы и методы, использованные в исследовании, описаны корректно и в степени подробности, достаточной для их воспроизведения. Выбор методов обоснован целью и соответствует задачам исследования. Необходимо отметить, что автор впервые в Российской Федерации для изучения патогенеза РА использовал культивирование стромальных клеток – ФСК. В главах 3 и 4 представлены полученные собственные результаты и их развернутая интерпретация. В обсуждении автор анализирует полученные результаты в контексте современных представлений о проблеме, проводит глубокий сравнительный анализ собственных данных и результатов, опубликованных в мировой научной литературе. В заключении автором представлено краткое и

содержательное обобщение полученных результатов. Работа завершается 5 выводами.

Материалы диссертации изложены последовательно, в полном соответствии с поставленными задачами. Решение всех задач, аргументированность и обоснованность выводов, вытекающих из изложенных фактических данных, позволяют считать диссертацию завершённой.

Автореферат полностью соответствует содержанию основных разделов диссертации.

Принципиальных замечаний, которые могли бы повлиять на ценность представленного исследования, нет. Тем не менее, при ознакомлении с диссертацией возникли вопросы:

1. Исследуемая Вами проблема, учитывая наличие в списке литературы всего 4-х ссылок на публикации в российских научных изданиях (из них три более чем 5-летней давности), другими отечественными учеными не изучается, т.е. не представляет интереса в России? Почему Вы акцентировали свое внимание преимущественно на работах зарубежных ученых?
2. Учитывая разнообразие используемых Вами терминов при описании метаболической функции фибробластоподобных синовиальных клеток (ФСК) *in vitro* – уточните, пожалуйста, что Вы всё-таки оценивали – продукцию, секрецию или синтез исследуемых в работе веществ (интерлейкинов, ростового фактора и др.) ФСК?

Заключение

Диссертация Шнайдер Марии Александровны «Влияние модуляторов метилирования ДНК на свойства фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом *in vitro*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, направленной на

углубление фундаментальных сведений о молекулярно-клеточных факторах развития аутоиммунных заболеваний суставов и разработку новых эффективных подходов к патогенетически обоснованной терапии больных ревматоидным артритом.

Диссертационная работа Шнайдер М.А. полностью отвечает критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.07.2022 г., протокол №15.

Заведующий кафедрой патофизиологии
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН



Уразова Ольга Ивановна

06 июля 2022 г.

Уразова Ольга Ивановна, доктор медицинских наук (3.3.3. Патологическая физиология), профессор (по кафедре патофизиологии), член-корреспондент РАН (общая патология), заведующий кафедрой патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России), 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2.
Адрес электронной почты: urazova.oi@ssmu.ru, телефоны: +7 (3822) 90-11-01, доп. 1742 (раб.), +7 (903) 913-14-83 (моб.).