

Директор ФГБУ "Ивановский НИИ
материнства и детства имени
В.Н. Городкова» МЗ РФ

Малин
д.м.н., проф. А.И. Малышкина
«*18*» *мая* 2023г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова Министерства здравоохранения Российской Федерации" о научно-практической значимости диссертационной работы Сметаненко Екатерины Александровны «Плацентарный фактор роста в регуляции Т-клеточных функций и экспрессии ингибиторных рецепторов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. «Аллергология и иммунология»

Актуальность темы диссертационной работы

Изучение влияния ангиогенных факторов на иммунную систему является одним из важнейших направлений, позволяющих раскрыть механизмы подавления иммунного ответа в условиях неоангиогенеза. Основное внимание в этом аспекте сконцентрировано на изучении иммуномодулирующих свойств фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), который рассматривается в качестве ключевого фактора опухоль-индуцированной иммуносупрессии и способен подавлять функции эффекторных Т-клеток через рецептор к VEGF 2-го типа. Диссертационная работа Сметаненко Екатерины Александровны посвящена изучению иммуномодулирующих свойств другого белка семейства VEGF - плацентарного ростового фактора (PlGF). Данный фактор взаимодействует исключительно с рецепторами к VEGF 1-го типа (VEGF R-1), который считается рецептором-ловушкой, и экспрессия этого рецептора на Т-клетках остается мало исследованной. Сведения об иммуномодулирующей активности PlGF в отношении Т-клеток практически отсутствуют. Между тем, PlGF подобно VEGF продуцируется опухолевыми клетками. Более того, концентрация этого фактора резко возрастает при беременности, сопровождающейся формированием иммунологической толерантности. Однако вопрос о способности PlGF регулировать функции Т-клеток остается открытым. С этой точки зрения, работа Е.А. Сметаненко, посвященная изучению иммуномодулирующего влияния ангиогенных факторов на

функции Т-клеток и экспрессию ими ингибиторных рецепторов *in vitro*, а также оценке экспрессии ингибиторных рецепторов на Т-клетках беременных с высоким (неосложненная беременность) и низким (преэклампсия) уровнем сывороточного PlGF, является, несомненно, актуальной как в фундаментальном, так и прикладном аспектах.

Соответствие темы диссертации научной специальности

Диссертация Е.А. Сметаненко выполнена на базе лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» и посвящена изучению влияния PlGF на функции Т-клеток и экспрессию ингибиторных рецепторов. С этой целью автор в культуре *in vitro* исследует влияние PlGF на пролиферацию, продукцию IL-10 и апоптоз и экспрессию ингибиторных рецепторов (PD-1, CTLA-4 и Tim-3) субпопуляциями CD4 и CD8 Т-клеток в культуре, а также оценивает *ex vivo* экспрессию ингибиторных рецепторов на Т-клетках при неосложненной и осложненной (преэклампсия) гестации, т.е. у беременных, кардинально различающихся по уровню PlGF и функционированию иммунной системы. Таким образом, тема диссертации полностью соответствует научной специальности 3.2.7 «Аллергология и иммунология», согласно паспорту специальности: «медико-биологическая специальность, посвященная изучению иммунитета (система защиты организма от биологической агрессии) и его нарушений (аллергии, иммунодефицитов, аутоиммунных процессов), а также созданию методов диагностики, профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями в системе иммунитета.

Достоверность полученных результатов диссертационной работы и обоснованность научных положений и выводов

Диссертационная работа представляет завершенное исследование, выполненное на высоком научном и методическом уровне. Сформулированные автором цель и задачи выполнены в полном объеме. Достоверность полученных результатов подтверждается логично выстроенным алгоритмом работы, продуманным дизайном и достаточной выборкой исследования, использованием современных иммунологических методов и адекватных и корректных методов статистической обработки. Выносимые на защиту положения в полной мере подтверждены полученными результатами. Выводы основываются на полученном фактическом материале и отражают суть проведенных исследований.

Основные положения работы доложены и обсуждены на международных и российских научных форумах и представлены в 9 печатных работах, включая 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, в том числе одну статью в журнале, индексируемом в базе Web of Science (Q1). Апробация диссертации состоялась 30 июня 2022 г на семинаре клинического отдела ФГБНУ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии. Автореферат полно отражает содержание диссертации. В нем изложены актуальность, цель, задачи, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна, научно-практическая значимость, наиболее важные результаты и выводы.

Научная новизна исследования

В работе впервые продемонстрированы и охарактеризованы иммуномодулирующие эффекты PlGF на активированные Т-клетки. Показано, что PlGF в широком диапазоне доз подавляет пролиферацию в культурах aCD3-стимулированных моноклеарных клеток, ингибируя как CD4, так CD8 Т-лимфоциты. Эффект фактора на Т-клетки является прямым и реализуется через рецепторы VEGF 1-го типа, экспрессия которых индуцируется при активации CD4 и CD8 Т-клеток. Также получены новые данные о способности PlGF стимулировать CD4 и CD8 Т-лимфоциты к продукции IL-10, усиливать апоптоз CD8 Т-лимфоцитов и повышать экспрессию Т-клетками ингибиторных рецепторов (PD-1, CTLA-4- и Tim-3) с наиболее выраженным эффектом в отношении Tim-3. В исследованиях *ex vivo* продемонстрировано усиление экспрессии PD-1 и Tim-3 на Т-клетках беременных с неосложненной гестацией в сравнении с фертильными небеременными. При этом впервые продемонстрирована зависимость между концентрацией PlGF в сыворотке крови и экспрессией ингибиторных молекул на периферических Т-клетках беременных. Установлено, что относительное содержание периферических CD8+PD-1+ и CD4+Tim-3+ клеток у беременных во второй половине гестации прямо коррелирует с концентрацией PlGF и достоверно выше в группе с высоким уровнем PlGF (неосложненная беременность), чем у беременных с низким уровнем фактора (беременные с преэклампсией).

Значимость результатов для науки и практики

Теоретическая значимость работы заключается в установлении и характеристике иммуномодулирующего влияния PlGF на Т-клетки, раскрытии закономерностей экспрессии Т-клетками рецепторов к PlGF (VEGFR-1) и выяснении роли PlGF/VEGFR-1 сигнального пути в регуляции функций активированных Т-лимфоцитов. Полученные данные о влиянии

PlGF на экспрессию Т-клетками ингибиторных рецепторов также расширяет представления о молекулярных механизмах иммуносупрессии, опосредованной ангиогенными факторами. Выявление особенностей в экспрессии ингибиторных рецепторов на периферических Т-клетках беременных с сопутствующей экстрагенитальной патологией свидетельствует о влиянии коморбидного статуса на перестройку иммунной системы при гестации. Обнаруженные различия в экспрессии ингибиторных рецепторов в зависимости от тяжести и сроков манифестации преэклампсии являются еще одним подтверждением вовлеченности иммунных механизмов в патогенез данной патологии и иммунопатогенетической разнородности ранней и поздней преэклампсии.

Практическая значимость работы заключается в установлении факторов (коморбидный статус, срок гестации), ассоциированных с особенностями экспрессии ингибиторных рецепторов на периферических Т-клетках беременных во второй половине гестации. Кроме того, выявление различий в экспрессии и коэкспрессии Т-клетками молекул PD-1, CTLA-4 и Tim-3 у беременных с неосложненной гестацией и преэклампсией являются основанием для исследования прогностической значимости указанных параметров в качестве новых биомаркеров иммунной адаптации и предикторов развития гестационных осложнений.

Структура и общая характеристика работы

Диссертационная работа Е.А. Сметаненко имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (212 источников). Текст изложен на 129 страницах, иллюстрирован 8 рисунками и 23 таблицами.

Во введении автор обосновывает актуальность данного исследования, формулирует цель и задачи, а также положения, выносимые на защиту; отмечает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы и степень достоверности результатов.

В литературном обзоре проанализирован обширный материал, касающийся современных представлений о закономерностях и механизмах перестройки иммунной системы при гестации и иммунных нарушениях при осложненной беременности, в частности, преэклампсии; роли ингибиторных рецепторов в реализации механизмов иммунной адаптации и особенностях экспрессии указанных рецепторов на Т-клетках при нормальной и осложненной гестации, а также биологических свойствах PlGF и его

влиянии на клетки иммунной системы. Данный обзор подводит к мысли о возможном участии PlGF в перестройке иммунной системы при гестации и необходимости исследования иммуномодулирующих свойств фактора на Т-клетки.

В главе «Материалы и методы» автор подробно описывает группы обследованных, клинические критерии включения и исключения, методы выполненных в работе иммунологических исследований, а также методы статистической обработки данных.

Глава 3 представляет результаты собственных исследований и включает 5 разделов, логически выстроенных в соответствии с поставленными задачами. Первые три раздела посвящены исследованиям эффектов PlGF на функции Т-клеток и экспрессию Т-клетками ингибиторных рецепторов *in vitro*. Автором изучается влияние фактора на пролиферацию Т-клеток, включая субпопуляции CD4 и CD8 Т-лимфоцитов; особенности экспрессии VEGFR-1 и его роль в опосредовании ингибирующего эффекта PlGF; исследуется влияние PlGF на продукцию IL-10 и активационно-индуцированный апоптоз, а также экспрессию ингибиторных рецепторов (PD-1, CTLA-4- и Tim-3) в субпопуляциях CD4 и CD8 Т-лимфоцитов.

Вторая часть главы (разделы 4 и 5) посвящена исследованию особенностей экспрессии ингибиторных рецепторов на Т-клетках у беременных с высоким (неосложненная беременность) и низким (преэклампсия) уровнем PlGF в сравнении с фертильными небеременными. Обращает внимание тщательный клинический анализ исследуемых пациенток, который позволяет автору наряду с решением основных поставленных задач получить ряд новых и важных данных о факторах, влияющих на экспрессию ингибиторных молекул и особенностях экспрессии ингибиторных рецепторов в зависимости от тяжести и сроков манифестации преэклампсии.

В обсуждении автор подробно анализирует полученные результаты в сопоставлении с данными мировой литературы, что позволяет сформировать достаточно полное представление о проделанной работе.

В разделе заключение подводится краткий итог проделанной работы.

Выводы работы полностью соответствуют представленным результатам.

В целом диссертация производит благоприятное впечатление, она оригинальна, высокотехнологична, логично выстроена, написана хорошим литературным языком. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. Таким образом, представленная к защите

диссертация является законченной работой, в которой решены все поставленные задачи.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к работе нет. Имеющиеся некоторые неточности не сказываются на общей положительной оценке диссертации. Тем не менее, в процессе рецензирования сформировался ряд вопросов уточняющего характера.

1.Насколько полно антиVEGFR1антитела отменяют ингибирующий эффект PLGF?

2.Считает ли автор, что эффект PLGF опосредован только через VEGFR1?

3.Какими механизмами по мнению автора может быть опосредована зависимость между концентрацией PLGF в сыворотке крови и экспрессией ингибиторных молекул на периферических Т-клетках беременных?

Заключение

Диссертационная работа Е.А. Сметаненко «Плацентарный фактор роста в регуляции Т-клеточных функции и экспрессии ингибиторных рецепторов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. «Аллергология и иммунология», является самостоятельным завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком методическом уровне, и представляющим интерес для решения важной проблемы современной клинической иммунологии в области изучения иммунорегуляторной активности ангиогенных факторов.

По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Е.А. Сметаненко 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. «Аллергология и иммунология»

Отзыв заслушан, обсужден, и одобрен на заседании лаборатории клинической иммунологии, протокол №5 от 15.05.2023.

Заведующая лабораторией клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова Министерства здравоохранения Российской Федерации " д-р мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ



Сотникова Н.Ю.

Личную подпись	<i>Сотникова Н.Ю.</i>
заверяю. Ученый секретарь ФГБУ "Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова" Минздрава России, к.м.н.	
Подпись	Матвеева Е.А.
" 15 "	2023

Сотникова Наталья Юрьевна, д-р мед. Наук (специальность 14.03.09 — клиническая иммунология, аллергология), профессор, заслуженный врач РФ заведующая лабораторией клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова Министерства здравоохранения Российской Федерации" (**ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России**); ул. Победы, 20, Иваново, Ивановская обл., 153045, телефоны +7(3822)901101 доп. 1742 (раб), +7(903)9131483 (моб.).