

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 № 284

О присуждении Максимовой Александре Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Характеристика функциональных фенотипов и фиброгенной активности макрофагов человека *in vitro*» по специальности 14.03.09 – «Клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 08 октября 2021 г., протокол № 281 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 № 714 от 02.11.2012 года.

Соискатель Максимова Александра Александровна, 1993 года рождения, в 2017 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ) по специальности 31.05.01 Лечебное дело с присвоением квалификации «Врач-лечебник»; с 2017 по 2020 гг. проходила обучение в очной аспирантуре НИИФКИ; с 2018 г работает в НИИФКИ, до 2020 г - в должности лаборанта-исследователя, с октября 2020 г по настоящее время - в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории клеточной иммунотерапии отдела клинической иммунологии НИИФКИ.

**Научный руководитель** – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ НИИФКИ Шевела Екатерина Яковлевна.



### **Официальные оппоненты:**

**Савченко Андрей Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»;

**Логашенко Евгения Борисовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук.

### **Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» в своем положительном заключении, подписанном Чердынцевой Надеждой Викторовной, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН, заместителем директора по научной работе НИИ онкологии Томского НИМЦ, заведующий лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, указывает, что диссертационная работа Максимовой А.А. является актуальной и имеет важное фундаментальное и прикладное значение, решая важную задачу для иммунологии – изучение механизмов влияния макрофагов на процессы фиброгенеза и разработка метода идентификации М1 и М2 макрофагов. Выводы соответствуют поставленным задачам, и полностью отражают полученные данные. По актуальности, научной новизне, теоретической и научно-практической значимости полученных результатов, диссертационная работа соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор, Максимова А.А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ: из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных работ, в том числе 4 в изданиях, индексируемых в базах



Web of Science, Scopus, 2 тезисов в материалах конференций, а также получен 1 патент.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

- 1) **Yankovskaya A.A.** Allostimulatory activity as a criterion of the functional phenotype of human macrophages / A.A. Yankovskaya, E.Y. Shevela, L.V. Sakhno, M.A. Tikhonova, A.S. Dome, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh // Human Immunology. – 2019. – V.80. – №10. – P. 890-896. DOI: 10.1016/J.HUMIMM.2019.08.003
- 2) **Янковская А.А.** Сравнительная характеристика продукции ММР-9 и ТИМР-1 различными подтипами макрофагов / А.А. Янковская, Л.В. Сахно, Е.Я. Шевела // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13(22). – №2. – С. 997-999. DOI: 10.31857/S102872210006493-7
- 3) **Максимова А.А.** Продукция факторов, участвующих в регуляции фиброза, различными типами макрофагов человека / А.А. Максимова, Е.Я. Шевела, Л.В. Сахно, А.А. Останин, Е.Р. Черных // Медицинская иммунология. – 2020. – Т.22. – №4. – С. 625-632. DOI: 10.15789/1563-0625-POF-1954
- 4) Sakhno L.V. Efferocytosis modulates arginase-1 and tyrosine kinase Mer expression in GM-CSF-differentiated human macrophages / L.V. Sakhno, E.Y. Shevela, M.A. Tikhonova, **A.A. Maksimova**, T.V. Tyrinova, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh // Bull Exp Biol Med. – 2020. – Vol. 170. – №12. – P.778–781. DOI: 10.47056/0365-9615-2020-170-12-768-771
- 5) **Maksimova A.A.** Influence of secretome of different macrophage functional phenotypes on proliferation, differentiation and collagen-producing activity of dermal fibroblasts in vitro / A.A. Maksimova, E.Ya. Shevela, L.V. Sakhno, M.A. Tikhonova, A.A. Ostanin, and E.R. Chernykh // Bull Exp Biol Med. – 2021. – Vol.171 – №1. – P.49-52. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-1-64-68

Все основные результаты, представленные на защиту, опубликованы в оригинальных статьях в рецензируемых изданиях и тезисах докладов в сборниках научных конференций. Основные экспериментальные результаты, их статистическая обработка и представление в виде публикаций выполнены автором лично.

На автореферат поступило 4 отзыва от:



1) профессора кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора медицинских наук профессора **Козлова Ивана Генриховича**;

2) Старшего научного сотрудника лаборатории роста и развития Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына» доктора медицинских наук **Ельчанинова Андрея Владимировича**;

3) доцента кафедры анатомии человека Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора биологических наук **Лебедевой Анны Ивановны**;

4) ведущего научного сотрудника лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» кандидата медицинских наук **Борисова Александра Геннадьевича**.

Во всех отзывах отмечается высокая актуальность темы диссертационного исследования, практическая значимость работы, продуманный дизайн исследования. Среди результатов выделяется определение степени вовлеченности дифференцировочных и поляризующих сигналов в модуляцию про-/антифиброгенных свойств макрофагов и регуляторного влияния различных функциональных фенотипов макрофагов на фиброгенез, а также определение нового метода идентификации макрофагов M1/M2 фенотипов, основанного на способности стимулировать пролиферацию аллогенных Т клеток в смешанной культуре лейкоцитов. Все отзывы положительные, критических замечаний нет.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что **Томский НИМЦ** является одним из ведущих научно-медицинских центров России, осуществляющих комплексное решение фундаментальных и практических



проблем в области современной иммунологии, физиологии и онкологии. Указанное направление отражено в публикациях сотрудников, посвященных исследованию функциональной активности макрофагов и других клеток иммунной системы, а также регуляторной роли макрофагов в патологических процессах.

Выбор официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора **Савченко Андрея Анатольевича**, обосновывается его достижениями в области научных исследований по иммунологии и иммунологическим изменениям при различных патологических состояниях, а также большим списком научных публикаций в международных и российских журналах по указанным темам.

Выбор официального оппонента, кандидата биологических наук, **Логашенко Евгении Борисовны**, обосновывается ее достижениями в области иммунологии и молекулярной биологии, а также исследованиями биохимии воспаления и иммунитета.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**Доказано**, что М-CSF-дифференцированные макрофаги в ответ на провоспалительные стимулы характеризуются низкой экспрессией M1-ассоциированного маркера CD86 и умеренным уровнем продукции про-/противовоспалительных цитокинов, а в ответ на противовоспалительные сигналы – высокой экспрессией M2-ассоциированных маркеров CD163, MerTK и низкой продукцией про-/противовоспалительных цитокинов.

**Доказано**, что GM-CSF-дифференцированные макрофаги обладают преимущественно округлой морфологией, характеризуются высокой экспрессией CD86 и продукцией провоспалительных цитокинов в ответ на провоспалительные стимулы и высокой экспрессией M2-ассоциированных маркеров, и низким уровнем продукции провоспалительных цитокинов в ответ на противовоспалительные стимулы.

**Доказано**, что М-CSF-дифференцированные макрофаги вне зависимости от поляризующего стимула демонстрируют преимущественно антифиброгенные свойства вследствие низкой продукции TIMP-1, высокого индекса MMP-9/TIMP-1 и умеренной продукции коллагена I, в то время как GM-CSF-дифференцированные макрофаги проявляют как антифиброгенную (M2c(Dex)), так и профиброгенную (M2(LS)) активность (высокий уровень TIMP-1 и коллагена I, низкие значения MMP-9/TIMP-1).



**Доказано**, что растворимые факторы GM-CSF-дифференцированных макрофагов стимулируют функциональную активность фибробластов, при этом M2c(Dex) обладают наиболее выраженным эффектом на пролиферацию, тогда как M2(LS) в большей степени стимулируют дифференцировку фибробластов и продукцию коллагена.

**Теоретическая значимость исследования обоснована следующими положениями:**

**Показано**, что GM-CSF-дифференцированные макрофаги человека характеризуются выраженной пластичностью и в ответ на поляризующие сигналы формируют клетки как с M1, так и M2 фенотипами, тогда как M-CSF-дифференцированные макрофаги в большей степени детерминированы к формированию клеток с M2 фенотипами.

**Доказано**, что эффекты GM-CSF-дифференцированных макрофагов человека на функции фибробластов зависят от поляризующего сигнала, в частности, M2c(Dex) стимулируют преимущественно пролиферацию, а M2(LS) – дифференцировку дермальных фибробластов.

Полученные данные расширяют существующие представления о пластичности макрофагов человека, в частности, изменении их функционального фенотипа в зависимости от дифференцировочного и поляризующего стимулов и раскрывают степень вовлеченности этих сигналов в модуляцию про-/антифиброгенных свойств макрофагов, дополняя данные о регуляторном влиянии макрофагов человека на фиброгенез.

**Применительно к проблематике диссертации:**

**Результативно использован** комплекс существующих современных экспериментальных методик, включающий многоцветную проточную цитометрию, иммуноферментный анализ, мультиплексный протеомный анализ, радиометрическую оценку пролиферативной активности, методы культивирования различных типов клеток.

**Изложены** результаты экспериментальных исследований, доказывающие вовлеченность дифференцировочных и поляризующих сигналов в формирование функционального фенотипа макрофагов и модуляцию их про-/антифиброгенных свойств. GM-CSF-дифференцированные макрофаги характеризуются большей пластичностью по сравнению с M-CSF-дифференцированными клетками, а также более выраженными профиброгенными эффектами, степень влияния которых определяется дальнейшими поляризующими сигналами.



**Показано**, что макрофаги способны оказывать регуляторное воздействие на процесс синтеза/деградации внеклеточного матрикса и **раскрыты** прямые и опосредованные через фибробласты механизмы влияния макрофагов на фиброгенез.

**Доказано**, что профиброгенный эффект макрофагов, поляризованных в результате эффероцитоза, сопряжен с высоким уровнем продукции TGF- $\beta$ 1.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**Определен** новый метод идентификации оппозитных M1/M2 подтипов макрофагов, основанный на универсальном интегральном показателе этих клеток – аллостимуляторной активности – и позволяющий с высокой чувствительностью и специфичностью разделить между собой клетки с про- и противовоспалительным фенотипом. Аллостимуляторная активность может быть использована в качестве универсального параметра для определения M1/M2 фенотипа генерируемых макрофагов.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:** исследование проведено на сертифицированном оборудовании с использованием сертифицированных реагентов, работа выполнена на высоком методическом уровне, достаточна по объему материала. Полученные автором данные сопоставимы с опубликованными в научной литературе результатами о функциональных фенотипах макрофагов и их роли в фиброгенезе. Достоверность результатов определяется методически правильно построенным ходом исследования, использованием современных и адекватных методик сбора и статистической обработки 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 научных экспериментах. Автором был проведен обзор и анализ имеющейся научной информации по теме исследования. Все эксперименты были выполнены лично автором или при его непосредственном участии. Автором лично осуществлялись культуральные работы, включающее генерацию различных функциональных фенотипов макрофагов и ведение клеточных линий фибробластов, подготовка проб и анализ с помощью проточной цитометрии и иммуноферментного анализа, подготовка проб для определения пролиферативной активности радиометрическим методом (аллостимуляторная активность, пролиферативный ответ фибробластов).



Эльза Татаришвили Е.2