

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 08 сентября 2022 года № 295

О присуждении Шнайдер Марии Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация **«ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА СВОЙСТВА ФИБРОБЛАСТОПОДОБНЫХ СИНОВИАЛЬНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ *IN VITRO*»** по специальности 14.03.09 - «Клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 28 июня 2022 года, протокол № 292 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 Шнайдер Мария Александровна, 03 февраля 1986 года рождения, окончила в 2009 году ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России с присвоением квалификации «Врач» по специальности «Лечебное дело». С 2009-2011 гг. проходила обучение в ординатуре в ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по специальности

«Клиническая лабораторная диагностика». С 2010 по 2012 гг. работала в должности врача клинической лабораторной диагностики в отделении клинической лабораторной диагностики МБУЗ ГКБ №1. С 2012 по 2015 гг. работала в должности врача клинической лабораторной диагностики в ФГБУ "Федеральный центр нейрохирургии" Минздрава России (г. Новосибирск). В 2015 году прошла профессиональную переподготовку по специальности «бактериология». С 2015 года по настоящее время работает в должности врача-бактериолога в ФГБУ "Федеральный центр нейрохирургии" Минздрава России (г. Новосибирск).

В 2021 году закончила обучение в аспирантуре ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)» по специальности «Клиническая иммунология, аллергология» (заочная форма).

Диссертация выполнена в лаборатории клинической иммунофармакологии НИИФКИ.

Научный руководитель — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клинической иммунофармакологии ФГБНУ НИИФКИ Ширинский Иван Валерьевич.

Официальные оппоненты:

1. **Повещенко Ольга Владимировна** - доктор медицинских наук, доцент, заведующая лабораторией клеточных технологий «Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии», филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск);

2. **Сизякина Людмила Петровна** - доктор медицинских наук, профессор, главный аллерголог-иммунолог министерства здравоохранения Ростовской области, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии,

директор Научно-исследовательского института клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону) дали положительные отзывы.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (г. Томск) в своем положительном отзыве, составленном и подписанном заведующей кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, членом-корреспондентом РАН, доктором медицинских наук, профессором, Уразовой Ольгой Ивановной, и утвержденным ректором ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, доктором медицинских наук, профессором Куликовым Евгением Сергеевичем, указало, что диссертационная работа Шнайдер Марии Александровны является самостоятельной научно - квалификационной работой, содержащей новое решение одной из актуальных научных задач клинической иммунологии - изучение патогенетической роли синовиальных фибробластов больных ревматоидным артритом и методов их эпигенетической коррекции. В этой работе впервые выявлено, что синтез ФСК провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-17, IL-18) снижался только при добавлении в культуры донатора метильных групп SAME в определенных дозах. Деметилатор гидралазин практически не менял синтез цитокинов, а генистеин в некоторых дозах снижал продукцию IL-6 и IL-17. Модуляторы метилирования ДНК не влияли на продукцию клетками ФСК противовоспалительного цитокина IL-10, за исключением генистеина, внесение которого в культуры в средней дозировке снижало продукцию цитокина. Впервые показано, что метилирующее ДНК соединение SAME и биофлаваноид сои генистеин снижают продукцию

остеопротегерина (OPG) и RANKL в культуре ФСК. Впервые выявлено, что SAME усиливает синтез GM-CSF в культурах ФСК больных РА. Впервые установлено, что 40-45% ФСК больных РА в культуре способны к миграции и инвазии, внесение в культуры метилирующих и деметилирующих соединений уменьшают их миграционную и инвазивную активность.

Принципиальных замечаний нет, но есть замечания оформительского плана: пропущенные знаки препинания, единичные опечатки.

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 11 печатных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, из них 3 статьи в журналах, индексирующихся в базах Scopus и Web of Science.

1. Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Ширинский И.В. Культура фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом-свойства и возможности (обзор литературы). Медицинская иммунология. - 2016. -Т. 18. - № 2. - С.107-118. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-2-107-118
2. Шнайдер М.А., Калиновская Н.Ю. Плейотропное действие модуляторов метилирования ДНК на синовиальные фибробласты больных ревматоидным артритом *in vitro*. Объединенный иммунологический форум - 2019. Российский иммунологический журнал. - 2019. - Т. 13 (22). - №2. - С. 663-665. DOI: 10.31857/S102872210007007-2
3. Шнайдер М.А., Ширинский В.С, Калиновская Н.Ю., Ширинский И.В. Продукция про- и противовоспалительных цитокинов синовиальными

фибробластами больных ревматоидным артритом *in vitro* при использовании модуляторов метилирования ДНК – поисковое исследование. Медицинская иммунология. - 2019. - Т. 21. - №2. - С. 231-238. DOI:10.15789/1563-0625-2019-2-231-238

4. Шнайдер М.А., Ширинский В.С, Калиновская Н.Ю., Ширинский И.В. Влияние модуляторов метилирования ДНК на продукцию остеопротегерина ревматоидными фибробластоподобными синовиоцитами *in vitro*, их миграцию и инвазию. Бюллетень сибирской медицины. - 2019. - Т.18. - №3. - С. 116-124. DOI:10.20538/1682-0363-2019-3-116-124

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. профессора кафедры молекулярной и клеточной биологии медико - профилактического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, **Коростелева Александра Алексеевича;**
2. ведущего научного сотрудника Института экспериментальной медицины и биотехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения

Российской Федерации, кандидата медицинских наук, **Россинской Виктории Викторовны;**

3. заведующей кафедрой пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Ярославский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора **Шилкиной Натальи Петровны;**

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 **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)** 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 медицинских наук, доцента **Повещенко Ольги Владимировны** - обосновывается ее работами, посвященными изучению пролиферации, миграции и культивирования мезенхимальных стромальных клеток человека.

Выбор официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора **Сизякиной Людмилы Петровны** обосновывается ее работами, посвященными изучению цитокинов при различных заболеваниях, в том числе и аутоиммунных.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Установлено, что фибробластоподобные синовиальные клетки больных ревматоидным артритом в культуре *in vitro* спонтанно и под воздействием IL-1 β продуцируют провоспалительные цитокины IL-6, IL-18, IL-17, противовоспалительный цитокин IL-10, RANKL, остеопротегерин и GM-CSF, мигрируют в камере Бойдена и проникают через коллагеновую мембрану.

Доказано, что ингибитор DNMT1 гидралазин не влияет на продукцию IL-6, IL-18, IL-10, GM-CSF, RANKL и остеопротегерина; донатор метильной группы SAME уменьшает продукцию IL-6, IL-17 и IL-18 культивируемыми синовиальными клетками.

Доказано, что фитоэстроген генистеин оказывает ингибирующее влияние на продукцию цитокинов IL-6, IL-10 и IL-17 культивируемыми синовиальными клетками больных ревматоидным артритом; при этом наиболее выраженный эффект генистеин оказывает на IL-17, снижая его секрецию в 25 раз.

Доказано, что донатор метильной группы SAME и генистеин уменьшают продукцию остеопротегерина в 2 раза и RANKL в 3-5 раз, что указывает на преимущественно ингибирующее действие SAME и генистеина на секрецию RANKL культивируемыми синовиальными клетками больных ревматоидным артритом.

Доказано ингибирующее действие гидралазина, генистеина и SAME на миграционную и инвазивную способность фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом, где модуляторы метилирования ДНК в одинаковой степени снижают процент культивируемых синовиальных клеток, мигрирующих в камере Бойдена и проникающих через коллагеновую мембрану.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

получены новые знания о патогенезе ревматоидного артрита на основе оценки характеристик провоспалительного потенциала стромальных клеточных элементов синовиальной оболочки больных ревматоидным артритом -

фибробластоподобных синовиальных клеток, их способности продуцировать спонтанно и при стимуляции IL-1 β ряд провоспалительных цитокинов в высокой концентрации, остеопротегерин и RANKL. Выявленные патогенетические изменения могут быть обратимы после воздействия донатора метильной группы SAME и биофлаваноида генистеина, обладающих эпигеном-модулирующим влиянием. Изучен обратимый механизм прогрессии ревматоидного артрита и вовлечения в процесс интактных суставов, обусловленный способностью фибробластоподобных синовиальных клеток к миграции и инвазии через коллагеновую мембрану, которая существенно снижается под влиянием модуляторов метилирования ДНК.

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

Предложена новая мишень для таргетной терапии ревматоидного артрита – синовиальные клетки, культуры которых могут служить моделью доклинического скрининга новых лекарственных препаратов для лечения ревматоидного артрита.

Доказана эффективность скрининга на примере использования метилирующего соединения SAME и генистеина, обладающих противовоспалительными свойствами, снижающих процессы миграции и инвазии синовиальных клеток.

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 проверенных 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. 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 Шнайдер Марии Александровны «Влияние модуляторов метилирования ДНК на свойства фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом *in vitro*» 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 08 сентября 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Шнайдер М.А. 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 – 15 человек из 20 человек, входящих в состав диссертационного совета.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 7 докторов наук по профилю рассматриваемой работы, по специальности 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология», участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 13, против присуждения учёной степени – 1, воздержались – 0, недействительных - 1.

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



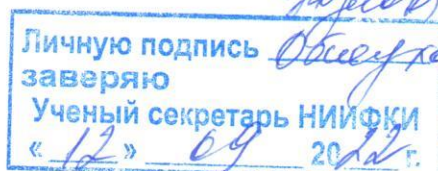
Козлов Владимир
Александрович

ученый секретарь диссертационного
совета Д 001.001.01
канд. биол. наук



Облеухова Ирина
Александровна

08 сентября 2022 года.



Козлов В.А.
Облеухова И.А.
Е.А.А. / [Signature]