

«УТВЕРЖДАЮ»

директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук
д.ф.-м.н., профессор О.Э. Соловьёва

« 31 » мая

2023 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН) о научно-практической значимости диссертационной работы Княжевой Марии Александровны «Редактирование депрессивно-подобного фенотипа модулированными *ex vivo* кофеином иммунокомпетентными клетками» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Княжевой М.А. «Редактирование депрессивно-подобного фенотипа модулированными *ex vivo* кофеином иммунокомпетентными клетками» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология

посвящена одной из актуальных проблем современной медико-биологической науки, что обусловлено важнейшей ролью иммунной системы и ее клеточных элементов, равно как и нарушения процессов нейроиммунного взаимодействия в патогенезе депрессии. Депрессия является важной медико-социальной проблемой современности в связи с большой распространенностью, вовлеченностью лиц трудоспособного возраста и отсутствием высокоэффективных средств терапии. По прогнозам ВОЗ депрессивные расстройства к 2030 году могут занять второе место в структуре причин нетрудоспособности. Нарушение нейроиммунного взаимодействия в патогенезе депрессивных расстройств включает дисбаланс нейромедиаторных систем; снижение процессов нейропластичности, повышение эндогенных нейротоксинов, нейродегенеративные изменения, активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатической систем, модулирующих функциональную активность иммунной системы. При тревожно-депрессивных расстройствах у человека и при их моделировании у животных регистрируются изменения ряда параметров врожденного и адаптивного иммунитета, включая выраженное увеличение количества нейтрофилов, изменение количества моноцитов, относительного количества субпопуляций Т-клеток и соотношения Th1/Th2, снижение количества регуляторных Т (Treg) и В (Breg) клеток, увеличение Th17-клеток, уменьшение количества В-клеток, снижение пролиферативной активности лимфоцитов и интенсивности иммунного ответа. В модели стресс-индуцированного депрессивно-подобного состояния показано, что хронический стресс оказывает провоспалительный эффект - усиливает мобилизацию моноцитов из костного мозга в циркуляцию и их миграцию в селезенку, легкие и головной мозг, индуцирует резистентность миелоидных клеток к глюкокортикоидам; усиливает экспрессию адгезивных молекул на эндотелиальных клетках, повышает уровень провоспалительных цитокинов в крови и головном мозге. Способность провоспалительных моноцитов мигрировать в периваскулярные пространства и ткань мозга и через интрацеребральную продукцию провоспалительных цитокинов активировать

микроглию раскрывает иммунно-опосредованные механизмы влияния периферических иммунокомпетентных клеток на функции ЦНС, включая поведенческие реакции. Основными цитокинами, вовлеченными в патогенез депрессии, являются ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α , ИНФ- γ . Изменение цитокинового профиля в иммунной системе и в ЦНС, равно как и модуляция активности нейромедиаторных систем головного мозга, опосредуют также иммуномодулирующие и поведенческие эффекты психоактивных веществ, используемых в терапии депрессивных расстройств. При этом классические антидепрессанты и анксиолитики недостаточно корректируют нарушения в когнитивной сфере; остается большой процент пациентов с хроническими симптомами. Указанные вещества имеют также достаточно широкий спектр побочных эффектов, ограничивающих возможности их использования; при этом, лекарственный патоморфоз депрессивных расстройств приводит к увеличению числа пациентов, резистентных к общепринятым психофармакологическим средствам, что делает поиск новых методов лечения указанной патологии актуальной задачей современной медицинской науки. Одним из путей решения проблемы является разработка новых методов лечения, основанных на иммунологических подходах. Выраженное фенотипическое и функциональное сходство клеточных элементов нервной и иммунной систем, одностороннее влияние на них большинства психоактивных препаратов, наряду с данными о важной роли иммунокомпетентных клеток и их биологически активных продуктов в патогенезе депрессии позволяют рассматривать эти клетки в качестве потенциального терапевтического агента при депрессивных расстройствах. Кофеин, известный своим психостимулирующим эффектом, является антагонистом аденозиновых рецепторов с дозозависимым действием. При этом, кофеин обладает также выраженными иммуномодулирующими свойствами, включая, рецептор-опосредованную модуляцию функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, в том числе и спленоцитов, что теоретически обосновывает возможность использования данного препарата для

модуляции *in vitro* нарушенной при депрессивно-подобном состоянии функциональной активности клеток иммунной системы с последующим использованием этих клеток для редактирования депрессивно-подобного фенотипа, что и явилось целью представленной весьма актуальной диссертационной работы. Исследования в этой области позволят расширить представления о патогенетических механизмах депрессивных расстройств, равно как и обосновать новые подходы к их терапии, что и определяет актуальность исследования.

Соответствие темы диссертации научной специальности

Диссертационная работа Княжевой М.А. выполнена в лаборатории нейроиммунологии отдела экспериментальной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» и посвящена изучению влияния трансплантации иммунокомпетентных клеток, модулированных *ex vivo* кофеином, на функциональную активность иммунной и нервной систем, поведенческий фенотип у депрессивно-подобных сингенных реципиентов. Тема диссертации полностью соответствует научной специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические науки), согласно паспорта специальности: «медико-биологическая специальность, изучающая иммунитет (механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии) и его нарушений (изучение патогенеза иммуноопосредованных и других заболеваний), а также разработку и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов. Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии».

Достоверность полученных результатов

Диссертация выполнена на высоком научном и методическом уровне, и представляет собой завершенное исследование. Цель и задачи,

сформулированные автором исследования, достигнуты полностью. Научные положения, выносимые на защиту, основываются на изучении большого объема экспериментальных данных, достаточных для получения достоверных результатов. Современные методы исследования, детальный анализ экспериментальных данных, адекватно подобранные методы статистической обработки убеждают в достоверности полученных результатов. Выводы обоснованы результатами исследований и точно сформулированы.

Основные положения диссертации широко представлены на всероссийских и международных съездах, конференциях и симпозиумах. По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ, в том числе 23 статьи (из них 14 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук), 7 публикаций (из них 2 статьи) в журналах международных баз данных Web of Science и Scopus; получен 1 патент на изобретение.

Научная новизна работы

Научная новизна диссертационной работы Княжевой М.А. заключается в том, что впервые показано выраженное позитивное иммунно- и психонейромодулирующее влияние иммунокомпетентных клеток с измененной *in vitro* кофеином функциональной активностью при депрессивно-подобном состоянии. В том числе, впервые установлено, что модулированные *ex vivo* кофеином спленоциты депрессивно-подобных доноров (СВАхС57BL/6)F1 вызывают у депрессивно-подобных сингенных реципиентов иммуностимулирующий эффект, проявляющийся в усилении антителообразования в селезенке при системном иммунном ответе и повышении пролиферативной активности спленоцитов. Впервые показано также, что трансплантация прекультивированных с кофеином спленоцитов депрессивно-подобных самцов (СВАхС57BL/6)F1 вызывает у депрессивно-

подобных сингенных реципиентов снижение катаболизма триптофана в селезенке на фоне снижения продукции спленocyтaми провоспaлительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- γ) и повышения противовоспaлительных (ИЛ-10 и ИЛ-4) цитокинов. У депрессивно-подобных реципиентов (CBA \times C57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином сингенных спленocyтoв также впервые выявлено снижение уровня провоспaлительных цитокинов в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- γ в гипоталамусе, ИНФ- γ в префронтальной коре, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- γ и ФНО- α в гиппокампе) при повышении уровня противовоспaлительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 в гиппокампе и ИЛ-10 в стриатуме, указывающих на снижение нейровоспaления; при этом впервые выявлено повышение нейрональной площади в CA1 и CA3 полях гиппокампа и уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре, свидетельствующее о стимуляции процессов нейропластичности. Впервые установлена также возможность редактирования депрессивно-подобного поведения трансплантацией модулированных *ex vivo* кофеином спленocyтoв, что проявляется у сингенных депрессивно-подобных реципиентов в снижении ангедонии, выраженном увеличении временных периодов мобильности при снижении периодов пассивного плавания с исчезновением периодов полной неподвижности в воде в тесте Порсолта, выраженной стимуляции моторного и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения.

Теоретическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о роли иммунокомпетентных клеток в патогенетических механизмах состояния депрессивности. В результате данной работы выявлена возможность этих клеток, с модулированной вне организма кофеином функциональной активностью, оказывать редактирующее влияние на депрессивно-подобный фенотип, что проявляется в коррекции депрессивно-

подобного поведения, включая снижение ангедонии, считающейся главным признаком депрессии у людей и состояния депрессивности в экспериментальных моделях; изменении функциональной активности иммунной системы (повышение интенсивности гуморального иммунного ответа *in vivo*, пролиферативной активности клеток селезенки, снижении в спленоцитах катаболизма триптофана и изменении продукция ими ряда цитокинов, являющихся биомаркерами антидепрессантной терапии); равно как и в структурно - функциональных изменениях в ЦНС (стимуляция процессов нейропластичности на фоне снижения нейровоспаления в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга).

Теоретическим фундаментом и одновременно принципиальным образом любой патологии являются моделирование патологических состояний. Сложность изучения депрессии определяется еще и тем, что вклад в развитие данной патологии вносит воздействие социальных факторов, в том числе хронического стресса, что было учтено автором при выборе модели депрессивно-подобного состояния. Экспериментальные модели не являются исчерпывающими объяснениями клинических проявлений заболевания, но они формируют теоретический фундамент для описания патогенеза, определяют основные методологические направления для верификации клинических интерпретаций и разработке схем патогенетической терапии, ассоциируемых с нарушениями исследуемых болезней.

Научно-практическая значимость работы

Научно-практическая значимость работы Княжевой М.А. определяется тем, что проблема поиска новых эффективных методов терапии социально значимых депрессивных расстройств, преодоления полной или частичной фармакорезистентности, снижения побочного действия применяемых лекарственных препаратов до сих пор остается открытой и очень актуальной, учитывая большое количество пациентов с указанной патологией во всем мире. Полученные автором работы результаты могут служить экспериментальным

обоснованием разработки новых технологий иммунотерапии депрессивных расстройств у человека аутологичными иммунокомпетентными клетками с модулированной *ex vivo* кофеином функциональной активностью.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Княжевой М.А. имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы. Материал диссертации изложен на 200 страницах машинописного текста, иллюстрирован 30 рисунками и 7 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения результатов собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов. Библиографический указатель содержит 371 цитируемый источник (в том числе 69 работ отечественных авторов), 74% используемой литературы относится к последним пяти годам.

Во введении автором точно и обоснованно формулируются все необходимые элементы диссертационного исследования: актуальность выбранной темы, цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов исследования. Положения, выносимые на защиту, отображают наиболее существенные результаты проведенного исследования.

Цель исследования сформулирована корректно и заключается в изучении влияния трансплантации иммунокомпетентных клеток, модулированных *ex vivo* кофеином, на функциональную активность иммунной и нервной систем, поведенческий фенотип у депрессивно-подобных сингенных реципиентов.

Поставленные задачи соответствуют цели и в полной мере служат ее достижению.

Обзор литературы, согласуется с темой диссертационного исследования, достаточно полно раскрывает состояние проблемы и позволяет определить

место и значение проведенного исследования в системе существующих научных положений.

Материалы и методы, использованные в исследовании, описаны корректно и в значительной степени подробно. Выбор методов обоснован целью, соответствует задачам, поставленным автором, и в оптимальной мере направлен на их решение, равно как и достижение цели.

В главе «Результаты собственных исследований» излагаются полученные экспериментальные данные. В том числе представлены дизайн исследования, характеристика используемой модели (оценка сформированности депрессивно-подобного состояния у самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях) и функциональной активности спленцитов депрессивно-подобных мышей после обработки клеток *in vitro* кофеином. Продемонстрировано влияние трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленцитов депрессивно-подобных доноров на показатели функциональной активности иммунной системы (интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа, спонтанная и митоген-индуцированная пролиферативная активность и продукция цитокинов спленocyтaми, уровень триптофана в спленocyтaх) сингенных депрессивно-подобных реципиентов. У последних показаны также изменения структурно-функциональных показателей нервной системы (поведенческий фенотип, морфологическая характеристика ядер гиппокампа CA1 и CA3 полей, уровень BDNF и содержание цитокинов в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга).

В главе «Обсуждение результатов» автором проведен детальный сравнительный анализ собственных данных и результатов, опубликованных в мировой научной литературе, что дает основание для формирования полноценных выводов.

В «Заключении» автор лаконично и точно обобщает полученные результаты.

Выводы сформулированы четко и логично, основываются на полученных данных, научно оправданы и достоверны, соответствуют поставленным задачам и отражают основные положения диссертации.

Автореферат с достаточной полнотой отражает содержание диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Княжевой Марии Александровны "Редактирование депрессивно-подобного фенотипа модулированными *ex vivo* кофеином иммунокомпетентными клетками" на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология является самостоятельным, завершенным научно-квалификационным исследованием, в котором содержится решение важной в научном и практическом плане для указанной отрасли знаний задачи: установлено, что модулированные *ex vivo* кофеином иммунокомпетентные клетки селезенки депрессивно-подобных мышей после трансплантации сингенным депрессивно-подобным реципиентам путем воздействия на основные патогенетические механизмы депрессии оказывают выраженный позитивный иммуно- и психонейромодулирующий эффекты, обеспечивающие редактирование депрессивно- подобного фенотипа, что может служить экспериментальным обоснованием разработки новых технологий иммунотерапии депрессивных расстройств у человека аутологичными иммунокомпетентными клетками с модулированной *in vitro* функциональной активностью.

По своей актуальности, методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Княжевой М.А. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 N 842 (в ред. от 11.09.2021), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор

заслуживает искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Отзыв на диссертационную работу Княжевой Марии Александровны подготовлен научным руководителем, главным научным сотрудником Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН), обсужден и одобрен на заседании ученого совета ИИФ УрО РАН (протокол № 9 от 31 мая 2023).

Научный руководитель,

главный научный сотрудник ИИФ УрО РАН,

д.м.н., профессор, академик РАН



Черешнев В.А.

Подпись Черешнева В.А. заверяю

ученый секретарь ИИФ УрО РАН,

к.б.н.



Храмцова Ю.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждения науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН). 620049, Российская Федерация, г. Екатеринбург ул. Первомайская, 106.

Телефон (факс): +7(343)3740070.

E-mail: iip@iip.uran.ru

Сайт: www.iip.uran.ru