

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.02 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 23.05.2019 г. № 1.

О присуждении Ворониной Елене Викторовне, гражданке Российской Федерации степени кандидата биологических наук. Диссертация «Созревание Т-фолликулярных хелперов в моделях *in vitro* и при *Helicobacter pylori*-инфекции *in vivo*» по специальности «14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 18.03.2019 г., протокол № 1 диссертационным советом Д.208.046.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О совете по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 года.

Соискатель Воронина Елена Викторовна, 1992 года рождения, в 2014 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородский государственный педагогический университет имени Козьмы Минина» по специальности «Биология с дополнительной специальностью Химия». С 2014 года и по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории клеточной иммунологии Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертация выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на базе лаборатории клеточной иммунологии.

Научный руководитель: доктор медицинских наук (14.00.36 – Аллергология и иммунология), профессор Талаев Владимир Юрьевич, заведующий лабораторией клеточной иммунологии Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Официальные оппоненты:

Пинегин Борис Владимирович – доктор медицинских наук (14.00.36 – Аллергология и иммунология), профессор, заслуженный деятель науки России, заслуженный врач России,

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, отдел иммунодиагностики и иммунокоррекции, заведующий отделом.

Захарова Людмила Алексеевна – доктор биологических наук (14.00.36 – Аллергология и иммунология), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН», лаборатория биохимии процессов онтогенеза, главный научный сотрудник. Дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук в своем положительном заключении, подписанном Ширшевым Сергеем Викторовичем, доктором медицинских наук (14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология), профессором, заслуженным деятелем науки РФ, заведующим лабораторией иммунорегуляции «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, и утвержденном Демаковым Виталием Алексеевичем, доктором медицинских наук (03.02.03 - Микробиология), профессором, членом-корреспондентом РАН, директором «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой осуществлено решение актуальной задачи по исследованию ранней фазы реализации гуморального иммунного ответа при помощи моделей иммунных реакций и изучение изменений субпопуляционного состава Т-хелперов, при заболеваниях, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией. Исследование имеет важное значение для современной фундаментальной иммунологии и расширяет имеющиеся представления о реализации гуморального иммунного ответа. В экспериментальных моделях *in vitro* было показано, что процесс созревания Т-фолликулярных хелперов может быть индуцирован путем прямого взаимодействия Т-хелперов и В-лимфоцитов, без предварительного контакта с дендритными клетками.

Соискатель имеет 22 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 14 работ (из них 6 – в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ), объемом 80 страниц.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которых отражены основные результаты: 1).Талаев, В.Ю. Характеристика малой субпопуляции наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов, несущих хемокиновый рецептор CXCR5 /В.Ю. Талаев, М.В. Плеханова, О.Н. Бабайкина, Е.В. Воронина // Иммунология. – 2015. – Т.36, – № 1.– С. 9-13. 2). Талаев, В.Ю. Созревание Т-фолликулярных хелперов *in vitro* /В.Ю. Талаев, М.В. Плеханова, Е.В. Воронина, О.Н. Бабайкина // Иммунология. -2015. - Т.36. - № 6.- С. 336-343. 3).Талаев, В.Ю.

Миграция дендритных клеток человека *in vitro*, индуцированная вакцинами, стимулирующими гуморальный и клеточный иммунитет /В.Ю. Талаев, М.В. Талаева, Е.В. Воронина, О.Н. Бабайкина // Современные технологии в медицине.- 2016.- Т.8. -№ 3. - С. 91-99. 4). Талаев, В.Ю. Два варианта экспрессии хемокиновых рецепторов на классических дендритных клетках крови человека, стимулированных вакцинами *in vitro* /В.Ю. Талаев, М.В. Талаева, О.Н. Бабайкина, Е.В. Воронина, И.Е. Заиченко // Иммунология. -2017 -Т. 38. - № 3 - С. 155-159.

На диссертацию и автореферат поступило 6 положительных отзывов без замечаний от: 1). д.б.н. Заботиной Т.Н., заведующий централизованным клинико-лабораторным отделом Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г.Москва). 2). д.м.н., профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации. Селькова С.А., руководителя отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» (г.Санкт-Петербург). 3). к.б.н., доцента Бабаева А.А., И.о. директора Научно-исследовательского института нейронаук, доцента кафедры общей и медицинской генетики Института биологии и биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (г. Нижний Новгород). 4). д.м.н., профессора Козлова И.Г, заведующего лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва). 5). к.м.н., Курилина В.В., старшего научного сотрудника лаборатории молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск). 6). д.м.н., профессора, заслуженного врача РФ, Сотниковой Н.Ю., заведующей лабораторией клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Иваново).

В отзывах отмечено, что на основе моделирования клеточных взаимодействий клеток иммунной системы в условиях *in vitro* были получены новые сведения о процессе созревания Т-фолликулярных хелперов в присутствии различных типов антигенпрезентирующих клеток. Выявлены изменения субпопуляционного состава Т-хелперов при *H.pylori*-инфекции.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой компетенцией в области клинической иммунологии, большим опытом работы в соответствующей области исследований.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработаны новые модели смешанных культур в условиях *in vitro* для изучения процесса созревания Т-фолликулярных хелперов. Предложена научная гипотеза, согласно которой весь процесс созревания Т-фолликулярных хелперов может происходить при прямом взаимодействии с В-лимфоцитами в В-клеточных зонах вторичных лимфоидных органов. Высказано предположение о роли Т-фолликулярных хелперов в развитии деструктивно-воспалительных изменений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки при *H. pylori*-инфекции. Доказано, что при совместном культивировании Т-хелперов и В-лимфоцитов происходило преимущественное созревание Т-фолликулярных хелперов. В смешанных культурах Т-хелперов и дендритных клеток в основном созревали клетки с фенотипом Т-клеток эффекторов и эффекторных Т-клеток памяти. Введены новые представления о механизмах запуска гуморального иммунного ответа при взаимодействии наивных Т-хелперов и В-лимфоцитов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказано, что среди наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов обнаруживается группа клеток, экспрессирующих хемокиновый рецептор CXCR5, необходимый для миграции в область В-клеточных фолликулов вторичных лимфоидных органов. В моделях *in vitro*, воспроизводящих взаимодействие клеток в В-клеточных фолликулах, показано, что под действием прямых контактов наивных Т-хелперов и В-лимфоцитов происходило созревание Т-фолликулярных хелперов. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования, таких как иммуномагнитная сепарация, методы культивирования клеток, иммунофлуоресцентный анализ, реакция обратной транскрипции и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Изложены основные положения диссертационной работы, давшие основания для выдвижения гипотезы, согласно которой процесс созревания Т-фолликулярных хелперов может быть локализован в В-клеточных зонах лимфоидных органов, а роль основных антигенпрезентирующих клеток могут исполнять В-лимфоциты. Раскрыты и расширены имеющиеся представления о возможностях дифференцировки Т-фолликулярных хелперов. Изучены фенотипические изменения субпопуляционного состава Т-хелперов при язвенной болезни и гастродуодените, ассоциированном с *H. pylori*-инфекцией. При язвенной болезни выявлено увеличение количества зрелых Т-фолликулярных хелперов в кровеносном русле. При гастродуодените увеличивалась экспрессия маркера фолликулярных Т-хелперов в группе незрелых Т-клеток. Предложена модернизация методов исследования ранней фазы индукции гуморального иммунного ответа при помощи моделей иммунных реакций *in vitro*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработаны экспериментальные модели иммунных реакций *in vitro* для изучения механизмов запуска гуморального иммунного ответа. Результаты диссертационной работы внедрены в экспериментальную работу лаборатории иммунохимии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Определены изменения содержания патогенетически значимых субпопуляций Т-хелперов при язвенной болезни и гастродуодените, ассоциированном с *H. pylori*-инфекцией. Созданы практические

рекомендации по использованию в диагностических целях полученных данных о разных типах изменений субпопуляционного состава Т-хелперов при различных заболеваниях, ассоциированных с *H. pylori*-инфекции. Представлены предложения по дальнейшему использованию в исследовательских целях моделей смешанных культур для изучения механизмов, лежащих в основе запуска гуморального иммунного ответа и для разработки новых способов лечения инфекционных или аутоиммунных заболеваний.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование выполнено на высоком научно-методическом уровне, с использованием высокотехнологических современных иммунологических и молекулярно-биологических методов исследований на сертифицированном оборудовании, адекватно подобраны методы статистической обработки данных. Теория построена на известных, проверяемых данных и согласуется с опубликованными экспериментальными результатами других авторов по проблематике исследования процесса созревания Т-фолликулярных хелперов. Идея базируется на анализе практики, обобщении передового опыта отечественных и зарубежных научно-исследовательских данных по теме диссертационного исследования. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее относительно особенностей дифференцировки Т-фолликулярных хелперов. Установлено, что результаты исследования согласуются с результатами других авторов, представленных в независимых источниках по тематике исследований. Использованы современные методики сбора, хранения, анализа и статистической обработки исходной информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах проведения исследования. Автор лично проводил обзор литературы по теме исследования. Лично проводил экспериментальную работу по выделению Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и дендритных клеток, созданию смешанных культур Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток, культивированию клеток, исследованию фенотипа клеток и экспрессии генов. Автор самостоятельно проводил статистическую обработку и анализ данных исследований, а также лично подготавливал материалы для публикаций.

На заседании 23.05.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Ворониной Елене Викторовне ученую степень кандидата биологических наук по специальности «14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология».

При проведении тайного голосования, диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология», участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 13, против - 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Тихонова Нина Тимофеевна

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук



Новикова Лидия Ивановна

23.05.2019 г.