

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Добрыниной Марии Александровны на тему: **«Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии»**, представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Важнейшей задачей современной иммунологии является получение новых химических соединений, обладающих одновременно иммунотропной и антимикробной активностями. Необходимость создания новых иммуноактивных соединений на основе эндогенных пептидных регуляторов обусловлена ключевой ролью иммунной системы в определении развития, течения и исхода большинства патологических инфекционных процессов, возникающих в макроорганизме. В этой связи особый интерес представляют биологически активные регуляторные молекулы, продуцируемые иммунокомпетентными клетками для поддержания гомеостаза организма, которые могут стать основой для создания лекарственных препаратов, позитивно влияющих на поврежденные звенья иммунной системы. К таким веществам/препаратам относятся различные цитокины, в частности, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), нашедший широкое применение в клинической практике лечения лейкозов и ряда других заболеваний. В конце 90-х годов из активного центра ГМ-КСФ были получены пептиды, обладающие активностью, идентичной таковой цельной молекулы ГМ-КСФ. Эти исследования позволили создать основу для дальнейшего изучения иммунобиологических свойств синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ.

При исследовании ряда синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ (в том числе, ZP2 с химической формулой: THR NLE NLE ALA SER

HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO) выявлено, что они в широком диапазоне концентраций обладают выраженной антибактериальной активностью в отношении разных видов стафилококков, причем, не только подавляют рост и размножение бактерий, но и снижают их биопленкообразование. Однако действие синтетического пептида ZP2 на грамотрицательные бактерии изучено достаточно фрагментарно. Кроме того, требуют дальнейшего анализа биологические эффекты данного пептида в системе взаимодействия фагоциты-пептид-грамотрицательные бактерии. Все это определяет актуальность данной работы.

Автореферат написан традиционно, со строгим и логическим изложением данных собственных исследований, что облегчает восприятие излагаемого материала. Все приведенные экспериментальные данные изложены в таблицах и рисунках хорошего качества, что облегчает их восприятие.

В автореферате автор приводит обоснование актуальности исследования и выбора темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту, четко излагает научную новизну исследований и практическую значимость. В материалах и методах представлены современные методы оценки иммунного статуса, процессов апоптоза, пролиферативной и иной функциональной активности иммунных клеток, в том числе и методом проточной цитометрии и мультиплексного анализа. Автор использовал достаточный набор современных методов, обеспечивающих надежность полученных результатов. Результаты исследований адекватно обработаны статистически.

Результаты собственных исследований автора представлены в полном объеме, дающем представление об иммунных и антимикробных механизмах действия синтетического пептида ZP2. Автором показан широкий спектр и расшифрованы механизмы иммуотропного действия данного пептида (пролиферация и апоптоз клеток, хемотаксис и хемокинез фагоцитов), антибактериальных эффектов против широкого спектра грамотрицательных

бактерий, в том числе и антибиотикорезистентных штаммов. Что очень важно автором впервые охарактеризованы особенности антибактериального действия синтетического пептида ZP2 на грамотрицательные микроорганизмы различной видовой принадлежности в условиях *in vitro*. Выявлен дозозависимый ингибирующий эффект синтетического пептида ZP2 в отношении развития тест-штамма *E. coli* в бульонной культуре, а также показано, что указанный пептид и созданное на его основе косметическое средство «АЦЕГРАМ-спрей» преимущественно снижают рост и размножение клинических изолятов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* и их биопленкообразование.

Результаты, полученные автором, являются новыми и способствуют развитию современной медицинской науки.

Выводы работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, соответствуют ее содержанию, базируются на результатах статистического анализа фактических данных и логично вытекают из них. Основные положения диссертации отражены в 17 печатных работах, в том числе: 11 статей в журналах из перечня ВАК (3 – Scopus, РИНЦ, 8 – РИНЦ), 4 статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК (4 – РИНЦ), получено 2 патента РФ на изобретения. Результаты работы доложены на многочисленных Всероссийских конференциях и форумах. Исследования могут быть внедрены как в учебные и научные организации, так и в практическое здравоохранение.

Таким образом, диссертационная работа Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология - представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую

решение конкретной научной задачи по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

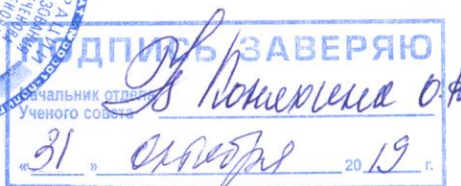
Заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии Федерального
государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования Первый
Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения
Российской Федерации (Сеченовский Университет)
д. б. н., профессор, академик РАН

На обработку персональных данных согласен



В.В.Зверев

В.В.Зверев



Организация: ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России. Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Адрес кафедры: 125009, г. Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 10.

Телефоны: +7(495)629-75-79, +7(495)629-76-19

E-mail: kaf-microb-pmgmu@yandex.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Одной из важных задач современной иммунологии и иммунофармакологии является получение новых химических соединений, обладающих иммуномодулирующей активностью. Необходимость создания новых иммуноактивных соединений на основе эндогенных пептидных регуляторов обусловлена ключевой ролью иммунной системы в определении развития, течения и исхода большинства патологических процессов, в том числе и инфекционных. В этой связи особый интерес представляют биологически активные регуляторные молекулы, продуцируемые иммунокомпетентными клетками для поддержания гомеостаза организма, которые могут стать основой для создания лекарственных препаратов, позитивно влияющих на поврежденные звенья иммунной системы. К таким веществам/препаратам относятся различные цитокины, в частности, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), нашедший широкое применение в клинической практике лечения различных заболеваний, в том числе и лейкозов. В конце XX века из активного центра ГМ-КСФ были получены пептиды, обладающие активностью, идентичной таковой цельной молекулы ГМ-КСФ. Эти исследования позволили создать основу для дальнейшего изучения иммунобиологических свойств синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ.

При исследовании пептидов активного центра ГМ-КСФ (в том числе, ZP2 с химической формулой: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO) было выявлено, что они в широком диапазоне концентраций обладают выраженной антибактериальной активностью в отношении разных видов стафилококков, причем, не только подавляют рост и размножение бактерий, но и снижают их биопленкообразование. Однако действие синтетического пептида ZP2 на грамотрицательные бактерии изучено фрагментарно. Кроме того, требуют дальнейшего анализа биологические эффекты данного пептида в системе взаимодействия фагоциты-пептид-грамотрицательные бак-

терии. Все это определяет актуальность данной работы.

Автореферат написан традиционно, со строгим и логическим изложением данных собственных исследований, что облегчает восприятие излагаемого материала. Все приведенные экспериментальные данные изложены в таблицах и рисунках хорошего качества. В автореферате автор приводит обоснование актуальности исследования и выбора темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту, четко излагает научную новизну исследований и практическую значимость. В материалах и методах представлены современные методы оценки иммунного статуса, процессов апоптоза, пролиферативной и иной функциональной активности иммунных клеток, цитокинов нейтрофилов в том числе и методом проточной цитометрии, мультиплексного анализа. Автор использовал достаточный набор современных методов, обеспечивающих надежность полученных результатов. Результаты исследований адекватно обработаны статистически.

Автором получены новые данные о способности синтетического пептида ZP2 в широком диапазоне концентраций усиливать пролиферацию лимфоцитов в РБТЛ, снижать апоптоз культуры клеток моноцитов, а также стимулировать хемотаксис и хемокинез нейтрофилов и моноцитов периферической крови человека. Кроме того, установлено, что ZP2 индуцирует продукцию гранулоцитами ряда цитокинов (IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α , IL-8, MIP-1 β) сильнее, чем грамотрицательные микроорганизмы и супернатанты их суточных бульонных культур, а при комбинированном действии на фагоциты пептида и микроорганизмов (или их супернатантов) уровень их цитокинопродукции имеет промежуточные значения. Показаны выраженные антибактериальные эффекты против широкого спектра грамотрицательных бактерий, в том числе и антибиотикорезистентных штаммов.

Выводы работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, соответствуют ее содержанию, базируются на результатах статистического анализа фактических данных и логично вытекают из них. Основные положения диссертации отражены в 17 печатных работах, в том числе: 11 статей в журналах из перечня ВАК (3 – Scopus, РИНЦ, 8 – РИНЦ), 4 статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК, получено 2 патента РФ на изобретения.

Таким образом, диссертационная работа Добрыниной М.А. на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология – представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы – синтетический пептид ZP2 – грамотрицательные бактерии.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Зав. лабораторией экспериментальной
и клинической фармакологии ФГБУ «НМИЦ
Детской гематологии, онкологии и
иммунологии им. Д. Рогачева»
Минздрава РФ, д.м.н., профессор

И.Г. Козлов

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» Минздрава России
ул. Саморы Машела, д. 1, г. Москва, ГСП-7, 117997
+7 495 287 65 88, info@fnkc.ru

И.Г. Козлов

На обработку персональных данных согласен

Подпись д.м.н., профессора И.Г. Козлова заверяю:

Ученый секретарь НМИЦ
Детской гематологии, онкологии и
иммунологии им. Д. Рогачева
Минздрава РФ, д.м.н., профессор



Е.А. Спиридонова

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ДОБРЫНИНОЙ Марии Александровны на тему
**«Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида
гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора
в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии»**,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Синтетические пептиды представляют собой группу перспективных соединений для разработки лекарственных препаратов иммунорегуляторной и антимикробной направленности. К этой группе относится синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2, который, как показали проведенные ранее исследования (Зурочка В.А., 2016), обладал плеiotропными иммунобиологическими эффектами, в том числе иммуномодулирующим действием и антибактериальной активностью, в частности в отношении стафилококков. В то же время действие указанного пептида на грамотрицательные бактерии разной видовой принадлежности изучено не достаточно полно. Фактически, «белыми пятнами» остаются эффекты цитокинов и синтетических пептидов при взаимодействии в системе фагоциты-вещество-бактерии. Это в полной мере относится и к синтетическому пептиду ZP2.

В этой связи **актуальность исследования** М.А. Добрыниной, которое нацелено на выявление новых иммуностимулирующих и антимикробных эффектов синтетического пептида ZP2 в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии, логически обоснована и не вызывает сомнения, а сформулированные и решенные задачи – достаточны для достижения заявленной цели.

Научная новизна и полученных результатов, выводов и рекомендаций. Добрыниной М.А. получены новые экспериментальные данные об иммуностимулирующих и антибактериальных свойствах синтетического пептида ZP2. Автором, в частности, показано, что синтетический пептид ZP2 в широком диапазоне концентраций (10-300 мкг/мл) обладает способностью усиливать пролиферацию лимфоцитов, снижать апоптоз моноцитов, а также стимулировать локомоторную активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови человека, в том числе в системе взаимодействия фагоциты-пептид-грамотрицательные бактерии, а также установлено, что синтетический пептид ZP2 способен индуцировать продукцию гранулоцитами периферической крови человека ряда цитокинов (IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α , IL-8, MIP-1 β) сильнее, чем грамотрицательные микроорганизмы и супернатанты их суточных бульонных культур, тогда как при комбинированном действии на фагоциты пептида и микроорганизмов (или их супернатантов) уровень их цитокинопродукции имеет промежуточные значения. Кроме того, Добрыниной М.А. впервые охарактеризованы особенности антибактериального (преимущественно ингибирующего) действия синтетического пептида ZP2 и созданного на его основе косметического средства «АЦЕГРАМ-спрей» в отношении роста и биопленкообразования таких грамотрицательных микроорганизмов, как *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

Значимость для науки и практики полученных результатов обусловлена впервые выявленными у синтетического пептида ZP2 новых иммунобиологических эффектов, связанных с его изолированным влиянием на иммунокомпетентные клетки человека (лимфоциты, нейтрофилы и моноциты) и сочетанным действием в системе фагоциты-пептид-грамотрицательные бактерии, а также с его антибактериальной активностью в отношении ряда грамотрицательных бактерий (энтеробактерии, псевдомонады, ацинетобактерии), что было

использовано при разработке и создании новых косметических средств («АЦЕГРАМ-спрей» и «АЦЕГРАМ-гель»), которые предназначены для наружного местного применения для профилактики раневых инфекций в травматологии, хирургии и гинекологии.

Результаты исследования используются в педагогическом процессе РостГМУ Минздрава России и научно-исследовательской деятельности ряда отечественных НИИ, а также внедрены в производственную и медицинскую практику некоторых организаций медико-биологического профиля.

Достоверность результатов исследования определяется тем, что они получены в достаточном объеме с использованием современных иммунологических и микробиологических методов исследования и корректно статистически обработаны. Сформулированные в автореферате выводы, положения и рекомендации логично вытекают из полученного фактического материала. По результатам исследования опубликовано 17 печатных работы, в том числе: 11 статей – в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, а также получено 2 патента РФ на изобретения. Основные положения диссертации многократно доложены и обсуждены на научных форумах разных уровней.

Принципиальные замечания и вопросы по автореферату диссертации отсутствуют.

Исходя из представленного в автореферате материала, можно заключить, что диссертация Добрыниной Марии Александровны, представленная на соискание ученой степени кандидата наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной для клинической иммунологии и аллергологии задачи, связанной с анализом новых иммунных и антибактериальных эффектов синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия иммунокомпетентная клетка-пептид-граммотрицательные бактерии, характеризуется научной новизной, теоретической и практической значимостью, что соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изм., утв. от 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, 28.08.2017 г. № 1024 и 01.10.2018 г. № 1168), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Башкирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России), заслуженный деятель науки РБ,
доктор медицинских наук, профессор

Мавзютов Айрат Радикович

Адрес ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3;
Тел.: (347) 2721160; Факс: (347) 2723751; E-mail: rectorat@bashgmu.ru



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Одной из важных задач современной иммунологии является получение новых химических соединений, обладающих плеiotропной, в том числе иммуномодулирующей, активностью. В этой связи особый интерес представляют биологически активные регуляторные молекулы, продуцируемые иммунокомпетентными клетками для поддержания гомеостаза организма, которые могут стать основой для создания лекарственных препаратов, позитивно влияющих на поврежденные звенья иммунной системы. К таким веществам/препаратам относятся различные цитокины, в частности, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), нашедший широкое применение в клинической практике лечения лейкозов. При исследовании ряда синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ (в том числе, ZP2 с химической формулой: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO) выявлено, что они в широком диапазоне концентраций обладают выраженной антибактериальной активностью в отношении разных видов стафилококков. Все это определяет актуальность данной работы.

Автореферат написан традиционно, со строгим и логическим изложением данных собственных исследований, стандартным построением таблиц и наглядно представленных рисунков, что облегчает восприятие излагаемого материала. Все приведенные экспериментальные данные изложены в таблицах и рисунках хорошего качества, что облегчает их восприятие.

В автореферате автор приводит обоснование актуальности исследования и выбора темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту, четко излагает научную новизну исследований и практическую значимость. В материалах и методах представлены современные методы оценки иммунного статуса, процессов апоптоза, пролиферативной и иной функциональной активности иммунных клеток, в том числе и методом проточной цитометрии. Автор использовал достаточный набор современных методов, обеспечивающих надежность

полученных результатов. Результаты исследований адекватно обработаны статистически.

Результаты собственных исследований автора представлены в полном объеме, дающем представление об иммунных и антимикробных механизмах действия синтетического пептида ZP2. Автором показан широкий спектр и расшифрованы механизмы иммуотропного действия данного пептида (пролиферация и апоптоз клеток, хемотаксис и хемокинез фагоцитов), антибактериальных эффектов против широкого спектра грамотрицательных бактерий, в том числе и антибиотикорезистентных штаммов. Результаты, полученные автором, являются новыми и способствуют развитию современной медицинской науки.

Выводы работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, соответствуют ее содержанию, базируются на результатах статистического анализа фактических данных и логично вытекают из них. Основные положения диссертации отражены в 17 печатных работах, в том числе: 11 статей в журналах из перечня ВАК (3 – Scopus, РИНЦ, 8 – РИНЦ), 4 статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК (4 – РИНЦ), получено 2 патента РФ на изобретения. Результаты работы доложены на многочисленных Всероссийских конференциях и форумах. Исследования внедрены как в учебные и научные организации, так и в практическое здравоохранение.

Таким образом, диссертационная работа Добрыниной Марии Александровны на тему: «Иммунные и антибактериальные эффекты синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в системе взаимодействия клетка-пептид-грамотрицательные бактерии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология - представляет собой законченную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной задачи по исследованию механизмов взаимодействия в системе клетки иммунной системы - синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2 - грамотрицательные бактерии.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335), а автор диссертации

заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Директор ФГБНУ НИИВС
им. И.И. Мечникова
д. м. н., член-корреспондент РАН

 О. А. Свитич

На обработку персональных данных согласна  О. А. Свитич

Подпись О. А. Свитич заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ НИИВС
им. И.И. Мечникова, к.м.н.



 С.Н. Жирова

Свитич Оксана Анатольевна директор ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова д. м. н., член-корреспондент РАН, Россия 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5а, Телефон +7 (495) 917-49-00 Факс +7 (495) 917-49-00 mech.inst@mail.ru