

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ДУКАРДТА Виктора Владимировича на тему
«Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)», представленной на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальности
14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Диссертационное исследование Дукардта В.В. посвящено решению **актуальной задачи клинической иммунологии**, а именно – выявлению особенностей реакции нейтрофилов при фагоцитозе бактерий, а также при воздействии цитокинов и их синтетических аналогов. Фундаментальный характер этой задачи определяется тем, что нейтрофилы, являясь иммунокомпетентными клетками, одними из первых вовлекаются в развитие инфекционно-воспалительного процесса и определяют характер самых ранних этапов его течения за счет продукции ими критически важных эффекторных и иммунорегуляторных молекул. К последним относятся цитокины. С другой стороны, цитокины и их синтетические аналоги находят все более широкое применение в клинической практике. Это, в частности, касается гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и синтетического аналога его активного центра – пептида ZP2, который обладает широким спектром иммунобиологических эффектов и на основе которого созданы новые косметические средства. Однако зависимость цитокинопродукции нейтрофилов от объектов фагоцитоза, а также при изолированном или сочетанном воздействии на гранулоциты синтетического пептида пока остается не известной.

В этой связи сформулированная в диссертации В.В. Дукардта **цель** представляется логически обоснованной, а решение поставленных **задач** – достаточным для ее достижения.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций определяется тем, что Дукардтом В.В. впервые экспериментально установлена вариабельность продукции (повышение/снижение) нейтрофилами широкого спектра цитокинов при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных бактерий, зависящая не только от их видовой принадлежности, но и штаммовых особенностей микроорганизмов. При этом автором показано, что в условиях *in vitro* синтетический пептид ZP2 оказывал выраженное стимулирующее влияние на цитокинопродукцию как интактных нейтрофилов, так и гранулоцитов при контакте с бактериями и их метаболитами, хотя в этих случаях индуцированная секреция цитокинов фагоцитами была несколько ниже. Особенный интерес вызывают данные, представленные Дукардтом В.В., отражающие способность грамположительных и грамотрицательных бактерий продуцировать в среду культивирования цитокиноподобных соединений, причем наиболее выраженной активностью по спектру и концентрации продуцируемых «бактериальных цитокинов» обладали штаммы *S. aureus*. Кроме того, автором показано, что синтетический пептид ZP2 оказывал разнонаправленное модифицирующее действие (стимуляция/ингибирование) на цитокиноподобную активность бактерий, характер которого зависел от вида и штамма микроорганизмов.

Значимость для науки и практики полученных результатов обусловлена тем, что В.В. Дукардтом впервые экспериментально показано, что синтетический пептид ZP2 способен стимулировать продукцию нейтрофилами широкого спектра цитокинов, а при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов изменение цитокинопродукции гранулоцитов имеет вариабельный характер и видо- и штаммоспецифические особенности, что необходимо учитывать при разработке подходов к рациональному

использованию синтетических аналогов цитокинов (в частности, пептида ZP2) в клинической практике. С учетом выявленной автором способности ряда бактерий к продукции цитокиноподобных веществ, а также известных данных о наличии у некоторых микроорганизмов антицитокиновой активности, Дукардтом В.В. разработана методология оценки цитокинового статуса фагоцитов (в частности, нейтрофилов) при взаимодействии с микроорганизмами, их экзометаболитами и синтетическим пептидом ZP2, в том числе при различных комбинациях указанных факторов в моделях бактерии-фагоциты-цитокины.

Результаты диссертации используются в научно-исследовательской работе, учебный процесс, производственную деятельность и медицинскую практику ряда организаций.


Достоверность результатов диссертационного исследования обусловлена использованием современных иммунологических методов, большим объемом полученного материала, корректно статистически обработанного и проанализированного, что позволяет считать сделанные на этой основе выводы, положения и рекомендации вполне обоснованными. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе: 12 статей – в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Основные результаты диссертации неоднократно обсуждались на научных конференциях. Вопросы и замечаний по автореферату диссертации не возникло.

Судя по автореферату, можно сделать **закключение**, что диссертация Дукардта Виктора Владимировича на соискание ученой степени кандидата наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для клинической иммунологии и связанной с оценкой особенностей продукции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе грамотрицательных и грамположительных бактерий, в том числе при воздействии синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. Диссертация 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 общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России),

заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

 Александр Викторович Жестков

Адрес ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89;
Тел./Факс: +7 (846) 332-16-34; E-mail: info@samsmu.ru



03.12.19

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дукардта Виктора Владимировича на тему:
**«Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и
воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального
колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)»**», представленной на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 –
клиническая иммунология, аллергология

Развитие, течение и исход инфекционно-воспалительного процесса в значительной степени связаны с функционированием иммунной системы. Ранние этапы формирования инфекционной патологии тесно сопряжены с взаимодействием бактерий и профессиональных фагоцитов (прежде всего, нейтрофилов) и вовлечением в него цитокинов. Последние могут выступать не только в роли чисто регуляторных молекул, усиливающих или снижающих воспаление, но и выступать в роли самостоятельных антимикробных факторов. Одним из важнейших из них является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), который широко применяется в клинике. В 90-х годах были получены синтетические пептидные аналоги активного центра данного цитокина, обладающие иммуностимулирующей активностью, идентичной таковой цельной молекуле ГМ-КСФ, а в последние годы у одного из них (синтетический пептид ZP2) выявлен комплекс новых свойств, отражающий наличие у него не только широкого спектра иммуотропных, но антимикробных и репаративных эффектов, что требует проведения дальнейших исследований иммунобиологической активности указанного пептида. В частности, остается открытым вопрос, связанный с особенностями влияния синтетического пептида ZP2 на секрецию цитокинов нейтрофилами, в том числе при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных бактерий.

С другой стороны, слабо изученным остается вопрос о взаимодействии бактерий с цитокинами, хотя недавно показано, что бактериальные метаболиты (супернатанты бульонных культур микроорганизмов) способны инактивировать отдельные цитокины (INF- γ , TNF- α , IL-4, IL-6 и др.), то есть проявлять «антицитокиновую» активность. Кроме того, неизвестно могут ли бактерии

секретировать в среду экзометаболиты, которые способны взаимодействовать со специфическими антителами к цитокинам и улавливаться известными тест-системами для их определения в исследуемых образцах. Все это определяет актуальность данной работы.

Автореферат написан традиционно, с логичным изложением данных собственных исследований, что облегчает восприятие материала. Все приведенные экспериментальные данные представлены в таблицах и рисунках хорошего качества, что способствует адекватному их восприятию.

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 цитокинового статуса нейтрофилов в очень широком современном спектре, с применением самого современного метода исследований иммунофлюоресцентного 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 на цитокиновую активность нейтрофилов. Автором показано, что синтетический пептид ZP2 активирует секрецию цитокинов гранулоцитами периферической крови (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12p70, IL-17A, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , INF- γ , MIP-1 β).

Бактерии различных видов и продукты их жизнедеятельности способны как повышать уровень секреции цитокинов нейтрофилами, так и снижать их активность, этот процесс также связан с видом бактерий.

Впервые изучены новые свойства грамположительных и грамотрицательных бактерий – способность секретировать в культуральную среду цитокиноподобные вещества.

Показано, что наибольшей цитокиноподобной активностью, как по спектру, так и по уровню цитокинопродукции, обладали бактерии вида *S.aureus*.

Синтетический пептид ZP2 обладал способностью снижать/повышать цитокинопродукцию бактерий, при этом варибельность ответов зависела от вида и штамма микроорганизмов.

Применение синтетического пептида ZP2 повышает продукцию цитокинов нейтрофилами, при влиянии на них как самих бактерий, так и продуктов их секреции, независимо снижалась или повышалась активность цитокинопродукции нейтрофилов в ответ на воздействие только различных бактерий или их супернатантов. Бактерии и их продукты снижают в зависимости от вида и штамма микроорганизмов цитокиновую продукцию активированных пептидом нейтрофилов, а степень выраженности влияния зависит от вида изучаемых бактерий.

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. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ в том числе: в журналах из перечня ВАК – 12 публикаций (из них, 2 статьи – Scopus, РИНЦ, 10 статей – РИНЦ), статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК – 3 (РИНЦ). 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 **Дукардта Виктора Владимировича** на тему: «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную научную квалификационную работу, содержащую решение важной научной задачи для специальности – 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, состоящую в проведении анализа механизмов цитокиновой регуляции нейтрофилов при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического

пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2.

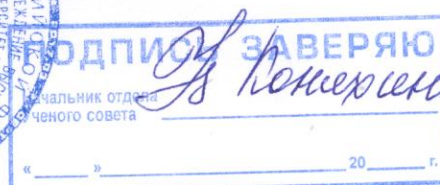
Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.16 № 335, 02.08.2016 № 748) и имеет существенное значение для клинической иммунологии, аллергологии, медицинские науки, а диссертант 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

В.В.Зверев

На обработку персональных данных согласен

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, 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 Дукардта Виктора Владимировича на тему: «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Известно, что в 90-х годах были получены синтетические пептидные аналоги активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), обладающие иммуностимулирующей активностью, идентичной таковой цельной молекуле ГМ-КСФ. В последние годы у одного из них (синтетический пептид ZP2) выявлен комплекс новых свойств, отражающий наличие у него не только широкого спектра иммуностропных, но антимикробных и репаративных эффектов. До конца не понятно влияние ZP2 на секрецию цитокинов нейтрофилами, в том числе при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных бактерий. Также слабо изученным остается вопрос о взаимодействии бактерий с цитокинами, хотя недавно показано, что бактериальные метаболиты (супернатанты бульонных культур микроорганизмов) способны инактивировать отдельные цитокины (INF- γ , TNF- α , IL-4, IL-6 и др.), то есть проявлять «антицитокиновую» активность. Кроме того, неизвестно могут ли бактерии секретировать в среду экзометаболиты, которые способны взаимодействовать со специфическими антителами к цитокинам и улавливаться известными тест-системами для их определения в исследуемых образцах. Все это определяет актуальность, новизну и практическую значимость данной работы.

Автореферат написан традиционно, со стандартным изложением данных собственных исследований, что облегчает восприятие материала. Все приведенные экспериментальные данные представлены в таблицах и рисунках хорошего качества, что способствует адекватному их восприятию.

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 цитокинового статуса нейтрофилов в очень широком современном спектре, с

применением самого современного метода исследований иммунофлюоресцентного 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 на цитокиновую активность нейтрофилов. Автором показано, что ZP2 обладает выраженной стимуляцией цитокинопродукции *in vitro* как интактными нейтрофилами, так и в условиях воздействия на них грамположительных, грамотрицательных бактерий, их продуктов секреции, а бактерии и их продукты снижают цитокиновую секрецию активированных пептидом нейтрофилов. Выводы работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, соответствуют ее содержанию, базируются на результатах статистического анализа фактических данных и логично вытекают из них. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ в том числе: в журналах из перечня ВАК – 12 публикаций (из них, 2 статьи – Scopus, РИНЦ, 10 статей – РИНЦ), статьи в рецензируемых журналах, не входящих в перечень ВАК – 3 (РИНЦ). 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 **Дукардта Виктора Владимировича** на тему: «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную научную квалификационную работу, содержащую решение важной научной задачи для специальности – 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, состоящую в проведении анализа механизмов цитокиновой регуляции нейтрофилов при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.16 № 335, 02.08.2016 № 748) и

имеет существенное значение для клинической иммунологии, аллергологии, медицинские науки, а диссертант 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

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дукардта Виктора Владимировича на тему:
**«Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и
воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального
колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)»**, представленной на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 –
клиническая иммунология, аллергология

Формирование инфекционно-воспалительного процесса в значительной степени связано с функционированием иммунной системы. Ранние этапы инфекционной патологии тесно сопряжены с взаимодействием бактерий и фагоцитов (прежде всего, нейтрофилов) и вовлечением в него цитокинов, которые могут выступать не только в роли чисто регуляторных молекул, но и самостоятельных антимикробных факторов. В 90-х годах были получены синтетические пептидные аналоги активного центра ГМ-КСФ, обладающие иммуностимулирующей активностью, идентичной цельной молекуле. Дальнейшие исследования одного из них (синтетический пептид ZP2) выявили комплекс новых свойств, кроме широкого спектра иммуотропных, но антимикробные и репаративные эффекты, что требует проведения дальнейших исследований иммунобиологической активности данного пептида. В частности, остается открытым вопрос, связанный с особенностями влияния синтетического пептида ZP2 на секрецию цитокинов нейтрофилами, в том числе при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных бактерий. С другой стороны, слабо изученным остается вопрос о взаимодействии бактерий с цитокинами. Недавно было показано, что бактериальные метаболиты способны инактивировать отдельные цитокины, то есть проявлять «антицитокиновую» активность. Кроме того, неизвестно могут ли бактерии секретировать в среду экзосомы, которые способны взаимодействовать со специфическими антителами к цитокинам и улавливаться известными тест-системами для их определения в исследуемых образцах. Все это определяет актуальность данной работы.

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 цитокинового статуса нейтрофилов в широком спектре, с применением современного метода исследований иммунофлюоресцентного 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 на цитокиновую активность нейтрофилов. Автором показано, что синтетический пептид ZP2 активирует секрецию цитокинов гранулоцитами периферической крови (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12p70, IL-17A, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , INF- γ , MIP-1 β). Выявлено, что наибольшей цитокиноподобной активностью, как по спектру, так и по уровню, обладали бактерии вида *S.aureus*. Синтетический пептид ZP2 обладал способностью снижать/повышать продукцию цитокиноподобной активности, при этом вариабельность ответов зависела от вида и штамма микроорганизмов.

Результаты, полученные автором, являются новыми и способствуют развитию современной иммунологии. Выводы работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, соответствуют ее содержанию, базируются на результатах статистического анализа фактических данных и логично вытекают из них. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе в журналах из перечня ВАК – 12 публикаций. 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 Дукардта Виктора Владимировича на тему: «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную научную квалификационную работу, содержащую решение важной научной задачи

в области клинической иммунологии и аллергологии, состоящую в анализе механизмов цитокиновой регуляции нейтрофилов при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ZP2.

Работа по своей научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует разделу II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.16 № 335, 02.08.2016 № 748) и имеет существенное значение для клинической иммунологии, аллергологии, медицинские науки, а диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Старший научный сотрудник лаборатории углеводов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, доктор биологических наук

Хайдуков С. В.

На обработку персональных данных согласен

Хайдуков С.В.

Подпись д.б.н. Хайдукова С.В. ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, доктор физико-математических наук.



Олейников В.А.

Данные об авторе отзыва: Хайдуков Сергей Валерьевич, доктор биологических наук (специальности: 14.00.46 - клиническая лабораторная диагностика, 14.00.36 - аллергология и иммунология), старший научный сотрудник Отдела химической биологии гликанов и липидов, Лаборатории углеводов, ФГБУН «Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, 117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10. Тел. +7 (985) 923-41-62. E-mail: khsergey54@mail.ru

На обработку персональных данных согласен.