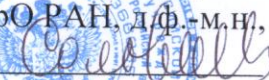


УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Института иммунологии и физиологии

УрО РАН, д.ф.-м.н., доцент

 О.Э. Соловьёва

«» июня 2019 года

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института иммунологии и физиологии Уральского отделения  
Российской академии наук

Диссертация «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)» выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (далее – *Института иммунологии и физиологии УрО РАН*).

В период подготовки диссертации, с 2017 года по настоящее время Дукардт В.В. работает в должности заведующего клинико-диагностической лабораторией ООО «ДокторЛаб» г. Челябинска, с 2019 года по настоящее время – младшим научным сотрудником лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

В 2003 году Дукардт В.В. окончил Челябинскую государственную медицинскую академию по специальности «Лечебное дело».

С 01.08.2014 по 31.07.2017 гг. Дукардт Виктор Владимирович являлся очным аспирантом в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2014 г. ГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Научные руководители:

- *Зурочка Александр Владимирович*, доктор медицинских наук, профессор, работает в должности ведущего научного сотрудника лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург);

- *Гриценко Виктор Александрович*, доктор медицинских наук, профессор, работает в должности главного научного сотрудника в лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза

УрО РАН Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН г. Оренбург.

По итогам обсуждения принято следующее **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**:

**Личное участие автора в получении научных результатов.** Личный вклад соискателя состоит в непосредственном выполнении всех этапов диссертационного исследования. Основная идея исследования, планирование научной работы, цели и задачи, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования проводились совместно с научными руководителями: д.м.н., проф. Зурочкой А.В. и д.м.н., проф. Гриценко В.А. Часть экспериментов проводилась совместно с сотрудниками лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН (д.м.н., с.н.с. В.А. Зурочка, к.б.н., с.н.с. Е.Б. Зуева, м.н.с. М.А. Добрынина), лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН (аспиранты Тяпаева Я.В. и Белозерцева Ю.П.), НИИ Особо чистых биопрепаратов ФМБА России (д.б.н. Колобов А.А.).

Анализ современной зарубежной и отечественной литературы по изучаемой проблеме цитокинов и их синтетических аналогов был проведен лично диссертантом.

Сбор первичных материалов, статистическая обработка данных, интерпретация и анализ полученных результатов, написание и оформление диссертации, представление результатов работы в научных статьях и в виде докладов на конференциях осуществлялись соискателем лично.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований.** Проверка первичной документации проведена комиссией в составе г.н.с., зав. лабораторией иммунологии воспаления, д.м.н. профессора Гусева Е.Ю., г.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии, д.м.н., проф., ЗДН РФ Черешневой М.В., г.н.с., зав. лабораторией биохимии и морфологии, д.б.н., доцентов Даниловой И.Г. в соответствии с приказом ИИФ УрО РАН от 14.06.2019 г. № 5). Первичная документация соответствует материалам исследования, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Составлен акт проверки достоверности первичной документации от 15.06.2019 г.

**Актуальность проблемы.** Диссертационная работа Дукардта В.В. выполнена в рамках одного из направлений фундаментальной иммунологии и посвящена исследованию механизмов регуляции цитокинов нейтрофилов в

условиях воздействия на них бактерий и синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2.

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. Поэтому регуляторные биологически активные молекулы, продуцируемые клетками иммунной системы для поддержания гомеостаза организма, становятся важными кандидатами для создания новых лекарственных препаратов. К таким веществам относятся, в первую очередь, цитокины. Не является исключением и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), нашедший широкое применение в клинической практике. В конце 90-х годов прошлого века были получены синтетические пептидные аналоги активного центра данного цитокина, обладавшие 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 иммуностропных, 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 было выявлено, что бактериальные метаболиты (супернатанты бульонных культур микроорганизмов) способны инактивировать отдельные цитокины (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , 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.

Литературные данные, затрагивающие вопрос о механизмах цитокиновой регуляции нейтрофилов при взаимодействии с бактериями и пептидами активных центров, противоречивы и не всегда вписываются в имеющиеся представления о механизмах действия цитокинов, из которых они получены.

Поэтому выявление новых данных о цитокиновой активности нейтрофилов

при фагоцитозе грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов при воздействии синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 является, несомненно, актуальным.

**Новизна.** 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 проанализированы новые свойства грамположительных и грамотрицательных бактерий – способность секретировать в культуральную среду цитокиноподобные вещества.

Выявлено, 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 вариабельность 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.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Исследование Дукардта В.В. имеет важное теоретическое и практическое значение. На основе полученных данных автором разработана методология оценки цитокинового статуса фагоцитов (в частности, нейтрофилов), в том числе, при их взаимодействии с грамположительными и грамотрицательными бактериями, их экзометаболитами и синтетическим пептидом ZP2, включая различные комбинации указанных факторов.

Показано, что в качестве дополнительных контролей необходимо определять цитокиноподобную активность бактерий и учитывать ее значение при исследованиях, в которых изучаются цитокиновый профиль на моделях взаимодействия бактерии-клетки-цитокины

При сочетанном воздействии на фагоциты супернатантов бактерий и препаратов цитокинов, обладающих иммуотропной, антимикробной и репарационной активностью, необходимо учитывать цитокиноподобную и антицитокиновую активность используемых в опытах микроорганизмов.

**Ценность научных работ соискателя.** Научные работы Виктора Владимировича опубликованы в центральных и региональных изданиях. Публикации используются в научной деятельности ученых, занимающихся проблемами иммунологического и физиологического характера, в практике работы врачей-иммунологов, в учебном процессе.

**Внедрение в практику.** Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую деятельность лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН (г.Екатеринбург), Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН (г.Оренбург), НИИ Особо чистых биопрепаратов ФМБА РФ (г.Санкт-Петербург), учебный процесс кафедры микробиологии и вирусологии № 1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (г.Ростов-на-Дону), производственную деятельность ООО «НПФ Верта» (г.Санкт-Петербург), ООО «Академический инновационный научный центр» (г.Челябинск), медицинскую практику работы ООО «Медицинского лабораторного центра «Фамилия» (г. Челябинск).

**Специальность, которой соответствует диссертация.** По объему и новизне полученных автором данных, разработанных теоретических положений, диссертационная работа Дукардта Виктора Владимировича на тему «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействии синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)» полностью соответствует заявленной специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, медицинские науки.

**Публикации.** 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). Изложенные материалы полностью отражают результаты диссертационной работы.

**Наиболее значимые публикации:**

1. Бактерии как продуценты цитокиноподобных веществ / А.В. Зурочка, **В.В. Дукардт**, В.А. Зурочка, М.А. Добрынина, Е.Б. Зуева, Я.В. Тяпаева, В.А. Гриценко// Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 3. С.374-376 (РИНЦ – 0,512, PubMed).

2. Влияние синтетического пептида активного центра GM-CSF на продукцию бактериями цитокиноподобных веществ в бульонных культурах / В.А. Зурочка, А.В. Зурочка, **В.В. Дукардт**, Е.Б. Зуева, М.А. Добрынина, Я.В. Тяпаева, В.А.Гриценко// Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, спец. вып. С. 33-34 (Scopus

– 0,03, РИНЦ – 0,797).

3. Оценка уровней цитокиноподобных веществ в супернатантах культур бактерий / В.А. Зурочка, А.В. Зурочка, Е.Б. Зуева, М.А. Добрынина, **В.В. Дукардт**, Я.В. Тяпаева, В.А. Гриценко // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, С. 32-33 (Scopus – 0,03, РИНЦ – 0,797).

4. Влияние стафилококков на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, Е.Б. Зуева, М.А. Добрынина, **В.В. Дукардт**, Я.В. Тяпаева, В.А. Гриценко // Российский иммунологический журнал. 2016. Т.10 (19), № 1. С.73-80 (РИНЦ – 0,389, PubMed).

5. Продукция цитокинов нейтрофилами периферической крови человека при воздействии синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), бактерий и их супернатантов / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, Е.Б. Зуева, М.А. Добрынина, **В.В. Дукардт**, Я.В. Тяпаева, Ю.В. Белозерцева, В.А. Гриценко // Российский иммунологический журнал. 2016. Т.10 (19), №2 (1). С.429-432 (РИНЦ – 0,634, PubMed).

6. Сравнительная оценка влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (Zp2) и супернатантов суточных культур грамотрицательных и грамположительных бактерий на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека / А.В. Зурочка, В.А. Зурочка, Е.Б. Зуева, М.А. Добрынина, **В.В. Дукардт**, Ю.П. Белозерцева, П.П. Курлаев, Я.В. Тяпаева, В.А. Гриценко // Российский иммунологический журнал. 2016. Т.10 (19), № 4. С.430-433 (РИНЦ – 0,634, PubMed).

**Рекомендации к защите диссертации с учетом научной зрелости соискателя.** Дукардт Виктор Владимирович является зрелым научным работником. Диссертационная работа Дукардта В.В., 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, 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 может быть представлена к защите по

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

Диссертация Дукардта Виктора Владимировича «Особенности секреции цитокинов нейтрофилами при фагоцитозе бактерий и воздействия синтетического пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ)» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заключение принято на заседании проблемной комиссии Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Присутствовало на заседании 11 членов комиссии. Результаты голосования: «за» – 11 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет чел., протокол № 3 от 18 июня 2019 года.

Председатель заседания проблемной комиссии  
по патофизиологии, иммунологии и аллергологии  
ИИФ УрО РАН  
академик, д.м.н., профессор



*В.А. Черешнев*

В.А. Черешнев

Секретарь проблемной комиссии

*Е.Н. Денкс*

Е.Н. Денкс