

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Михайловой В. А. на тему:
«Естественные киллеры: взаимодействие с клетками трофобласта и роль в патогенезе привычного невынашивания беременности», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям
3.3.3. Патологическая физиология и 3.2.7. Иммунология

Диссертационная работа Михайловой В.А. посвящена актуальной проблеме патологической физиологии и иммунологии – выявлению закономерностей взаимодействия НК-клеток с клетками трофобласта при беременности и определению нарушений этого взаимодействия при привычном невынашивании беременности (ПНБ). Известно, что популяция НК-клеток матки значительно увеличивается в первом триместре беременности в материнской части плаценты – в децидуальной оболочке. При этом, единая точка зрения на механизмы формирования и пополнения этой популяции НК-клеток в матке при беременности, а также на вклад этих клеток в развитие плаценты и течение беременности в настоящее время отсутствует. Недостаток фундаментальных знаний затрудняет разработку диагностических моделей для мониторинга этой популяции клеток при репродуктивных патологиях, в том числе, при ПНБ. Целью исследования являлось определение фенотипических и функциональных характеристик НК-клеток в условиях взаимодействия с трофобластом в экспериментальном исследовании и установление роли НК-клеток в патогенезе ПНБ. Поставленные автором задачи соответствуют цели и способствуют ее реализации. Методической основой работы являются модели взаимодействия клеток *in vitro* с использованием первичного клинического материала и перевиваемых культур НК-клеток (линия клеток NK-92) и трофобласта (линия JEG-3).

Автором показано, что клетки трофобласта экспрессируют молекулы адгезии (в частности, CD54), а растворимые продукты ворсин хориона усиливают экспрессию НК-клетками молекул адгезии CD11a, CD29, CD49d и CD58, а также увеличивают миграцию НК-клеток через слой трофобласта *in vitro*. Характерно, что в этой миграции селективно участвуют клетки с повышенной экспрессией CD11a, который в составе адгезивной молекулы LFA-1 и взаимодействует с CD54. Продемонстрировано, что материнские НК-клетки и клетки плодового происхождения вступают в сложные регуляторные взаимоотношения. При совместном культивировании трофобласт модулирует фенотип и функции НК-клеток, в частности, способствует приобретению характеристик децидуальных НК-клеток. Цитокины и растворимые факторы, секретируемые клетками плаценты, модифицируют влияние клеток трофобласта на НК-клетки, а продуцируемые ворсинами плаценты интерлейкины-15 и -18 способствуют приобретению НК-клетками отдельных фенотипических характеристик других популяций лимфоидных клеток врожденного иммунитета. Трансформирующий фактор роста- β , продуцируемый трофобластом, угнетает продукцию цитокинов НК-клетками, а НК-клетки при контакте с трофобластом, в свою очередь, ограничивают продукцию этого регуляторного цитокина.

Автором охарактеризованы микровезикулы, продуцируемые НК-клетками линии NK-92. Показано, что эти структуры влияют на клетки трофобласта, в частности,

усиливают сигналинг через STAT3, ослабляют пролиферацию и увеличивают миграцию клеток трофобласта, а также площадь, занимаемую каждой клеткой. Показано, что микровезикулы клеток NK-92 содержат цитотоксические белки, однако для проявления цитотоксического действия на трофобласт необходим непосредственный контакт NK-клеток с мишенями, причем цитотоксическое действие может модулироваться, как растворимыми факторами плаценты, так и самими клетками-мишенями. В частности, клетки трофобласта угнетают экспрессию потенциально опасных для них гранзима А, гранзима В и перфорина, а также индукторов рецептор-опосредованной гибели TRAIL, DR5 и DcR1 в NK-клетках. В результате, NK-клетки ослабляют свое цитотоксическое действие в стандартном тесте с клетками-мишенями K-562. В то же время, продукты ворсин хориона усиливают цитотоксическое действие NK-клеток на трофобласт. Последний эффект, по мнению автора, является проявлением механизма ограничения глубины инвазии трофобласта в эндометрий матки и, соответственно, является необходимым условием нормального развития плаценты.

В исследованиях, проведенных с использованием периферической крови пациенток с ПНБ, продемонстрировано, что клетки трофобласта контролируют пролиферацию NK-клеток. Автором установлено, что у небеременных пациенток с ПНБ цитотоксическая функция NK-клеток периферической крови в отношении клеток трофобласта повышена в секреторной фазе менструального цикла.

Таким образом, автором определены молекулярные основы адгезии и миграции NK-клеток в децидуальную оболочку через слой трофобласта, а также изменения фенотипа и функции NK-клеток в моделях микроокружения беременной матки, охарактеризованы особенности NK-клеток пациенток с ПНБ. Полученные результаты имеют несомненную теоретическую значимость, а также позволяют автору обосновать диагностическую ценность оценки цитотоксичности NK-клеток при ПНБ и сформулировать практические рекомендации по применению разработанных способов оценки цитотоксичности. Результаты работы подкреплены тремя патентами РФ.

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы не вызывает сомнений. По результатам исследования опубликовано 78 работ, из которых 24 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 10 из них - в журналах, индексируемых международными базами WoS и Scopus. Результаты диссертационной работы были обсуждены на многих всероссийских и международных конференциях, а также внедрены в научную и практическую деятельность научных учреждений Санкт-Петербурга.

Содержание автореферата позволяет заключить, что по актуальности, методическому уровню исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов, диссертационная работа Михайловой Валентины Анатольевны на тему «Естественные киллеры: взаимодействие с клетками трофобласта и роль в патогенезе привычного невынашивания беременности» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, установленным п.9 и п.14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а ее

автор заслуживает присвоения ей ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.3.3. - патологическая физиология и 3.2.7. - иммунология.

Ведущий научный сотрудник - 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, доктор медицинских наук по специальности 14.00.36 – Аллергология и иммунология, профессор,


Талаев Владимир Юрьевич

Подпись В.Ю. Талаева заверяю:

Ученый секретарь 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,
кандидат биологических наук


Снегирева Мария Сергеевна

« 10 » ноября 2023г.



ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора.
603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
Тел.: 8 (831) 469-79-01, 8 (831) 469-79-48.
E-mail: micro@nniem.ru, talaev@inbox.ru