

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.002.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 24.05.2023 № 07/2023

О присуждении Муругиной Нине Евгеньевне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Кооперация рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4» по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология» принята к защите 22 марта 2023 года (протокол заседания №4/2023) диссертационным советом 68.1.002.01, созданным на базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 (приказ № 206/нк от 14.02.2023 г.).

Соискатель Муругина Нина Евгеньевна, 07 июля 1983 года рождения. В 2006 году соискатель окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, медико-биологический факультет, кафедра биохимии по специальности «Биохимия». Работает младшим научным сотрудником в ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Диссертация выполнена в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, Пащенков Михаил Владимирович, и.о. заведующего лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Официальные оппоненты:

Кадагидзе Заира Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Козлов Иван Генрихович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института последипломного образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)» Министерства здравоохранения Российской Федерации – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в своем положительном заключении, подписанном докт. мед. наук, профессором, академиком РАН В.А. Козловым и утвержденным директором института докт. биол. наук А.Н. Силковым, указала, что «диссертационная работа Муругиной Нины Евгеньевны «Кооперация рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для аллергологии и иммунологии: продемонстрирована возможность активации макрофагов с использованием сочетания более низких доз агонистов NOD1 и TLR4 на макрофаги человека и доказаны механизмы синергических эффектов при действии комбинации агонистов NOD1 и TLR4. Изучена метаболическая активность макрофагов *in vitro* при действии комбинации агонистов NOD1 и TLR4. Создана

модель эффективного применения комбинации агонистов NOD1 и TLR4, которая приводит к синергическому увеличению экспрессии генов, кодирующих провоспалительные цитокины, и является эффективным активатором противоопухолевой активности человеческих макрофагов *in vitro*. Диссертация Муругиной Н.Е. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология»».

Соискатель имеет 26 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 11 работ опубликовано в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций («Journal of Leukocyte Biology», «Journal of Biological Chemistry», «Journal of Immunology», «Иммунология», «Российский иммунологический журнал»).

Наиболее значимые работы:

1. Budikhina A.S., **Murugina N.E.**, Maximchik P.V., Dagil Y.A., Nikolaeva A.M., Balyasova L.S., Murugin V.V., Selezneva E.M., Pashchenkova Y.G., Chkadua G.Z., Pinegin B.V., Pashenkov M.V. Interplay between NOD1 and TLR4 receptors in macrophages: Nonsynergistic activation of signaling pathways results in synergistic induction of proinflammatory gene expression. *J. Immunology.* 2021. 206(9): 2206-2220.
2. **Муругина Н.Е.**, Муругин В.В., Пащенков М.В. Противоопухолевая активность макрофагов, активированных агонистами рецепторов NOD1 и TLR4 *in vitro*. *Иммунология.* 2022. 43 (5): 548-557.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от Тухватулина Амира Ильдаровича, канд. бiol. наук, старшего научного сотрудника лаборатории клеточной микробиологии Федерального государственного бюджетного

учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, и Сапожникова Александра Михайловича, докт. биол. наук, профессора, главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук. Отзывы положительные, замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области исследований, представленных в диссертационной работе, и отсутствием совместных работ и договорных обязательств с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана научная концепция кооперации рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4, позволившая выявить качественно новые закономерности исследуемого явления;
- предложена оригинальная научная гипотеза о механизмах формирования синергического ответа клеток врожденного иммунитета при сочетанной активации рецепторов NOD1 и TLR4;
- доказана возможность перепрограммирования активности макрофагов с про- на противоопухолевую при кооперации рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4;
- введены новые понятия о механизмах противоопухолевой активности макрофагов при сочетанной стимуляции агонистами NOD1 и TLR4.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказано синергическое и несинергическое изменение биологических ответов при сочетанной стимуляции рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4, участвующих в распознавании грам-отрицательных бактерий, что расширяет представления о механизмах воспаления;
- применительно к проблематике диссертации эффективно, с получением обладающих новизной результатов использован комплекс существующих

базовых методов исследования, в том числе выделение, культивирование и стимуляция клеток, иммунофлюoresценция, ИФА, ОТ-ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинг, анализ метаболизма в реальном времени и др.;

- изложены экспериментальные данные о формировании синергического эффекта при кооперации рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4;
- раскрыта роль факторов транскрипции семейства NF-кВ в формировании синергического эффекта: факторы транскрипции семейства NF-кВ необходимы для экспрессии генов провоспалительных цитокинов, но недостаточны для формирования синергического эффекта;
- изучены связи сочетанной стимуляции рецепторов NOD1 и TLR4 в макрофагах человека с перепрограммированием активности макрофагов человека с проопухоловой на противоопухоловую;
- проведена модернизация методов оценки противоопухоловой, метаболической активности макрофагов человека *in vitro*, разработаны последовательности ПЦР-праймеров для оценки экспрессии генов иммунного ответа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработаны и внедрены новые универсальные методики оценки метаболической и противоопухоловой активности макрофагов человека *in vitro*;
- определены перспективы практического использования новой комбинации агонистов NOD1 и TLR4 для разработки комбинированных иммуностимуляторов микробной природы;
- в модельной системе показано, что комбинация агонистов NOD1 и TLR4, вызывает синергическое увеличение экспрессии генов, кодирующих провоспалительные цитокины, и является эффективным активатором противоопухоловой активности макрофагов человека *in vitro*;
- представлены предложения по дальнейшему исследованию комбинации агонистов NOD1 и TLR4 в качестве потенциального противоопухолового средства.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены на сертифицированном и откалиброванном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизованным методикам, основные результаты воспроизведены минимум в трех экспериментах, показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях;
- теория построена на известных проверяемых фактах об активации клеток врожденного иммунитета при стимуляции паттерн-распознающих рецепторов и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- идея базируется на обобщении передового опыта исследований молекулярных механизмов активации клеток врожденного иммунитета под действием агонистов рецепторов NOD1 и TLR4;
- использовано сравнение полученных автором данных и данных отечественных и зарубежных исследований по рассматриваемой тематике;
- установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;
- использованы современные методики сбора и обработки экспериментальных данных; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования, проведении анализа современной научной литературы по теме исследования, непосредственном участии в проведении научных экспериментов и получении первичных данных, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы, на которые соискатель Муругина Н.Е. ответила и привела собственную аргументацию:

**Вопрос:** Планируете ли Вы использовать результаты Ваших исследований для каких-либо терапевтических целей?

**Ответ:** В настоящее время мы ведем работы, которые уточняют механизмы сочетания этих агонистов, в дальнейшем планируются исследования, направленные на создание терапевтических препаратов, содержащих сочетания агонистов паттерн-распознающих рецепторов.

**Вопрос:** Можно ли использовать вашу модель сочетанной активации рецепторов для подбора фармакологических лигандов?

**Ответ:** Проведенные в данной работе исследования могут быть использованы для подбора фармакологических лигандов.

**Вопрос:** Возможно ли с помощью использованных в Вашей работе методов определять эффективность того или иного иммуномодулятора?

**Ответ:** Если состав иммуномодулятора предполагает активацию нескольких рецепторов, то, несомненно можно использовать примененные в нашей работе методики по оценке передачи сигналов в клетке, экспрессии генов цитокинов для того, чтобы оценить их эффективность.

**Вопрос:** Пытались ли Вы применить метод секвенирования транскриптома для того, чтобы найти какие-то неожиданные мишени при действии сочетания агонистов NOD1 и TLR4?

**Ответ:** В настоящее время работы по этой теме в нашем коллективе продолжаются. Было проведено исследование методом секвенирования экспрессии большого количества генов и показано, что только десять процентов из всех индуцильных генов индуцируется синергически.

**Вопрос:** Оказывает ли влияние полиморфизм паттерн-распознающих рецепторов на выраженность синергического эффекта?

**Ответ:** Согласно литературным данным полиморфизм рецепторов описан и показано, что он влияет на эффекты, реализуемые NOD и Толл-рецепторами.

Диссертация Муругиной Н.Е. «Кооперация рецепторов врожденного иммунитета NOD1 и TLR4» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение актуальных задач, имеющих существенное значение для аллергологии и иммунологии: раскрыты механизмы синергического эффекта при сочетанной стимуляции рецепторов NOD1 и TLR4; изучен вклад взаимодействия сигнальных путей рецепторов NOD1 и TLR4, ядерной транслокации NF-кВ, активации Р13К-зависимого и МАП-киназного сигнальных путей, гликолиза, аутокринных и паракринных механизмов с участием секретируемых цитокинов в формирование синергического эффекта при сочетанной стимуляции NOD1 и TLR4; выявлены группы генов, индуцируемых синергически при сочетанной стимуляции NOD1 и TLR4, описан характер экспрессии этих генов; установлены временные рамки формирования синергического эффекта; доказано, что синергический эффект формируется на этапе экспрессии мРНК цитокинов; разработан метод эффективного перепрограммирования активности макрофагов человека с проопухолевой на противоопухолевую при сочетанной стимуляции макрофагов агонистами NOD1 и TLR4. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016 г. № 335, в редакции постановления Правительства РФ от 18 марта 2023 г. № 415), а ее автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология».

На заседании 24.05.2023 года диссертационный совет принял решение: за решение актуальных научных задач, имеющих существенное значение для аллергологии и иммунологии, присудить Муругиной Н.Е. ученую степень кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7. Аллергология и иммунология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 20 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета  
член-корр. РАН, доктор медицинских наука  
профессор



Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук

М.П. Хайтов

Г.О. Гудима

26.05.2023