

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ  
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

*На правах рукописи*

МЕЛАМУД МАРК МАРКОВИЧ

---

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД**

об основных результатах выполненной  
научно-квалификационной работы

**Цитокиновая регуляция образования каталитических антител при  
нейроиммунных патологиях**

Направление подготовки 1.5 Биологические науки  
Специальность 1.5.4 Биохимия

Аспирант \_\_\_\_\_ М. М. Меламуд

Научный руководитель \_\_\_\_\_ д.б.н., проф., В. Н. Бунева

Рецензент \_\_\_\_\_ к.х.н. И. К. Байков

Новосибирск – 2024

Работа выполнена в Лаборатории ферментов репарации ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

Научный руководитель:

**Бунева Валентина Николаевна**

Доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник Лаборатории ферментов репарации, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

## Список сокращений

### Общая характеристика работы

#### Актуальность

Феномен каталитической активности антител впервые показан более 50 лет назад [1]. Способность антител гидролизовать ДНК была показана более 30 лет назад [2]. Однако, с того момента об этих антителах мало что известно. Что это за антитела? Какие клетки секретируют эти антитела? Как эти антитела взаимодействуют с другими молекулами, дирижирующими иммунным ответом, цитокинами? И самое главное, какова роль этих антител в патогенезе различных заболеваний и есть ли она вообще?

Доподлинно неизвестно, но в настоящее время есть основание предполагать, что каталитически активные антитела являются естественными антителами. Однако это ещё не показано. Естественные антитела — это антитела, которые вырабатываются в организме без явной антигенной стимуляции [3]. Между каталитическими и естественными антителами существует достаточно общих черт, чтобы отнести их в одну категорию. Во-первых, они присутствуют у всех. Естественные антитела обнаруживаются и у здоровых людей, так как по своему определению синтезируются без явной антигенной стимуляции [3]. В свою очередь, низкая каталитическая активность антител также обнаруживается и у здоровых людей [4]. Во-вторых, естественные антитела, как и каталитические антитела широкоспецифичны и низкоаффинны [3]. Кросс-реактивность каталитически активных антител показана ранее [5]. В-третьих, естественные антитела направлены на распознавание консервативных паттернов. Для каталитических антител также показана активность в основном против консервативных молекул [6].

В настоящее время принято считать, что естественные антитела секретируются не всеми плазматическими клетками, а только теми, которые произошли из В1 клеток (CD19+CD43+) [3]. (Примечание: далее по тексту под клетками, синтезирующими антитела, будут называться В-клетки, однако речь идёт о плазматических клетках, произошедших из этих клеток). В1 клетки в свою очередь делятся на В1а-клетки (CD19+CD43+CD5+) и В1b-клетки (CD19+CD43+CD5-). Согласно литературным данным именно В1а-клетки ответственны за синтез естественных антител [7]. В ходе выполнения данной работы будет проведено выделение В1- и В1а-клеток для последующего исследования их антитело-продукции. Это составляет одну из главных частей актуальности данной работы, поскольку ранее никем не показано клеточное происхождение каталитических антител.

Иммунный ответ представляет собой чрезвычайно сложноорганизованную систему с невероятным множеством переплетений активностей разных молекул. Главными молекулами, управляющими и направляющими иммунный ответ являются цитокины. На данный момент не существует данных о связи изменения уровня каких-либо цитокинов и изменения уровня каталитической активности антител. Данная работа направлена на то, чтобы изучить этот вопрос как можно детальнее. Помимо цитокинов, молекулами, управляющими иммунным ответом, являются алармины. Алармины — это молекулы, выделяющиеся из клеток при их разрушении или синтезируемые клетками при сублетальном стрессе [8]. Основной задачей аларминов является привлечение иммунокомпетентных клеток в очаг поражения для удаления некротического и

апоптотического материала. Главным алармином, в контексте изучения ДНК-гидролизующей активности антител, по нашему мнению, является внеклеточная ДНК. На данный момент существует гипотеза о том, что этот алармин является триггером для наработки антител к ДНК, которые являются патогномичным признаком системной красной волчанки (СКВ) [9]. Однако, связь этого алармина с ДНК-гидролизующей активностью на данный момент неизвестна. В рамках выполнения данной работы нами поставлена задача решить эту проблему, которая является актуальной в вопросе патогенеза СКВ.

Самый главный и актуальный вопрос заключается в том, какова роль каталитически активных антител в патогенезе нейроиммунных патологий? Данных о том, что активность этих антител повышается при различных заболеваниях, недостаточно. Повышение может быть вызвано как компенсаторной реакцией, так и протекать по независимому от главной линии патогенеза механизму. Самой актуальной проблемой, поставленной при выполнении данной работы, является определение роли каталитически активных антител в патогенезе различных нейроиммунных патологий.

### **Цели и задачи исследования**

Целью настоящей работы являлось изучение связи изменения уровней цитокинов и внеклеточной ДНК (вкДНК) с изменением каталитической активности антител, а также установление клеточного происхождения каталитически активных антител.

Для достижения поставленной цели были сформированы следующие задачи.

- 1) Изучить изменение ДНК- и гистон-гидролизующих активностей антител IgG при нейроиммунных патологиях (СКВ, рассеянный склероз (РС), шизофрения) и у здоровых доноров.
- 2) Оценить связь уровней цитокинов и вкДНК с изменением каталитической активности IgG при нейроиммунных патологиях.
- 3) Изучить взаимосвязь между каталитической активностью IgG из плазмы крови пациентов и их клинико-anamнестическими данными.
- 4) Изучить связь уровней цитокинов и вкДНК с изменением уровня ДНК-гидролизующей активности IgG плазмы крови мышей на пристан-индуцированной мышинной модели СКВ.
- 5) Установить клеточное происхождение каталитически активных антител.

### **Научная новизна полученных данных**

Показано, что пациенты с СКВ, в отличие от пациентов с другими нейроиммунными патологиями (РС и шизофрения), разделяются на две выраженные группы с высокой и низкой каталитической активностью антител. Впервые исследована корреляционная взаимосвязь между каталитическими активностями IgG из плазмы крови пациентов с нейроиммунными патологиями и цитокинами в плазме крови. Впервые показано, что каталитические активности IgG достаточно слабо связаны с изменением уровня цитокинов. Показана обратная зависимость между хемокинами макрофагов и нейтрофилов и ДНКазной активностью антител. Впервые показана прямая связь между повышением уровня ДНКазной активности IgG и патогномичным признаком СКВ — увеличением концентраций антител к одно- и двухпочечной ДНК.

Впервые показана динамика изменения концентрации вкДНК в плазме крови мышей, иммунизированных пристаном. Помимо этого, впервые продемонстрирована выраженная взаимосвязь между концентрацией вкДНК в плазме крови мышей (как иммунизированных пристаном, так и без иммунизации) и изменениями массы тела.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В результате выполнения работы установлено выраженное разделение пациентов с СКВ на две группы: с высокими и низкими каталитическими активностями IgG в плазме крови. Несмотря на то, что не было обнаружено связи между уровнем каталитической активности антител и баллами по шкале SLEDAI, в будущем, при более подробном изучении связи каталитических активностей антител с клинико-анамнестическими данными, это разделение на группы с высокой и низкой активностями может быть использовано для стратификации пациентов. Изучение динамики изменения концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови на пристан-индуцированной мышинной модели СКВ показало взаимосвязь между увеличением массы тела (особенно за счёт жировой ткани) и увеличением концентрации вкДНК в плазме крови. Этот феномен может помочь более чётко описать связь между набором лишнего веса и сопровождающим его высвобождением маркёров воспаления.

### **Апробация работы**

По результатам исследования опубликовано 6 работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях и 3 тезисов.

1. Melamud, M. M., Ermakov, E. A., Boiko, A. S., Parshukova, D. A., Sizikov, A. E., Ivanova, S. A., ... & Buneva, V. N. (2022). Serum cytokine levels of systemic lupus erythematosus patients in the presence of concomitant cardiovascular diseases. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 22(8), 852-861.
2. Меламуд, М. М., Ермаков, Е. А., Бойко, А. С., Камаева, Д. А., Иванова, С. А., Невинский, Г. А., & Бунева, В. Н. (2022). ДИСРЕГУЛЯЦИЯ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ. *Саратовский научно-медицинский журнал*, 18(1), 125-127.
3. Melamud, M. M., Ermakov, E. A., Boiko, A. S., Kamaeva, D. A., Sizikov, A. E., Ivanova, S. A., ... & Buneva, V. N. (2022). Multiplex analysis of serum cytokine profiles in systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13829.
4. М. М. Меламуд, В. Н. Бунева, Е. А. Ермаков. Изменение цитокинового профиля у больных системной красной волчанкой в зависимости от наличия сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы. Сборник тезисов VIII международной научно-практической конференции молодых учёных биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов в рамках площадки открытых коммуникаций OPENBIO. 2021
5. М.М. Меламуд, Е.А. Ермаков, Г.А. Невинский, В.Н. Бунева. Связь уровня цитокинов с концентрацией аутоантител и их каталитическими свойствами при системной красной волчанке. Сборник тезисов IX международной научно-практической конференции молодых учёных биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов в рамках площадки открытых коммуникаций OPENBIO. 2022

6. Ermakov, E., Melamud, M., Boiko, A., Parshukova, D., Sizikov, A., Ivanova, S., ... & Buneva, V. (2022). Multiplex analysis of serum cytokine profiles in patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. In *Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2022)* (pp. 785-785).

### **Вклад автора**

Основная часть экспериментов выполнена лично автором. Определение концентрации цитокинов при различных нейроиммунных патологиях методом мультиплексного анализа проводилось на базе НИИ Психического здоровья, ТНИМЦ, Томск. Забор крови у мышей для последующего исследования и наблюдение за животными проводились Корниенко Т. Е. из лаборатории биоорганической химии ферментов ИХБФМ СО РАН, Новосибирск. Сортировка В-клеток на субпопуляции с помощью клеточного сортера проводилась Нуштаевой А. А. из лаборатории биотехнологий ИХБФМ СО РАН, Новосибирск. Обработка и визуализация результатов всех экспериментов проводилась автором.

# 1. Материалы и методы

## 1.1 Экспериментальная работа с лабораторными животными

### 1.1.1 Лабораторные животные и иммунизация

Мыши линии Balb/C в количестве 51 особи были приобретены в виварии ГНЦ ЦБ «Вектор». Все особи – самки, на момент приобретения им было 8 недель. После прохождения десятидневного карантина, мыши были разделены на две группы и переселены в виварий ИХБФМ СО РАН. Экспериментальная группа состояла из 26 особей, контрольная группа состояла из 25 особей. Экспериментальную группу мышей единообразно иммунизировали с помощью 500 мкл пристана (2,6,10,14-тетраметил-пентадекан) (Sigma-Aldrich, USA) интраперитонеально. Мыши из контрольной группы были единообразно интраперитонеально иммунизированы с помощью 500 мкл раствора ФБС (фосфатный буферный солевой раствор). Пристан-индуцированная модель СКВ является самой распространённой моделью для формирования СКВ-подобного состояния у грызунов [10].

### 1.1.2 Наблюдение за состоянием лабораторных животных

Каждую неделю с момента иммунизации проводился визуальный осмотр мышей из экспериментальной и контрольной группы. Помимо этого, еженедельно проводилось взвешивание каждой особи.

### 1.1.3 Экспериментальная работа с плазмой крови лабораторных животных

#### 1.1.3.1 Анализ уровня внеклеточной ДНК в плазме крови лабораторных животных

Для анализа концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови мышей кровь забиралась в специальные пробирки с напылённым антикоагулянтом (Microvette, Sarstedt, Санкт-Петербург, Россия). Забор крови объёмом 200–300 мкл с одной особи проводился из ретроорбитального синуса. Забор крови для анализа концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови проводился в следующих временных точках: -2 недели (за две недели до иммунизации), 8 недель, 14 недель, 22 недели, 28 недель после иммунизации. Получение плазмы проводилось методом центрифугирования (2000g, 15 мин).

Выделение внеклеточной ДНК из плазмы крови проводился с помощью набора D-Blood-250 (Биолабмикс, Россия) по инструкции производителя. Анализ концентрации внеклеточной ДНК проводился с помощью набора Qubit dsDNA High Sensitivity Assay Kit на флуориметре Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, Германия)

#### 1.1.3.2 Анализ концентрации цитокинов и антител к ДНК в плазме крови лабораторных животных

Для анализа концентрации цитокинов и антител к ДНК в плазме крови мышей кровь забиралась в специальные пробирки с напылённым антикоагулянтом (Microvette, Sarstedt, Санкт-Петербург, Россия). Забор крови объёмом 200–300 мкл с одной особи проводился из ретроорбитального синуса. Забор крови для анализа концентрации цитокинов и антител к ДНК в плазме крови проводился в следующих временных точках: 0 недель, 10 недель, 16 недель, 24 недели, 30 недель после иммунизации. Получение плазмы крови проводилось методом центрифугирования (2000g, 15 мин)

Анализ концентрации цитокинов и антител к ДНК на данный момент не проведён.

### **1.1.3.3 Анализ каталитической активности плазмы и антител в плазме крови лабораторных животных**

Для анализа каталитической активности плазмы и антител в плазме крови мыше кровь забиралась в специальные пробирки с напылённым антикоагулянтом (Microvette, Sarstedt, Санкт-Петербург, Россия). Забор крови проводился во временных точках вывода мышей из эксперимента для проведения клеточных работ: 18 недель, 28 недель после иммунизации. Кровь забиралась только у тех мышей, которые планировались для вывода из эксперимента в конкретную временную точку, в максимально возможном объёме из ретроорбитального синуса. Получение плазмы проводилось методом центрифугирования (2000g, 15 мин)

Анализ каталитической активности плазмы и антител в плазме на данный момент не проведён.

### **1.1.4 Экспериментальная работа с клетками селезёнки лабораторных животных**

#### **1.1.4.1 Выделение В-клеток из селезёнок мышей**

Выведение мышей из эксперимента проводилось на 18 и 28 недели после иммунизации в количестве 6 особей (3 из контрольной и 3 из экспериментальной группы). Выведение мышей проводилось методом дислокации шейного отдела позвоночника. После чего у мыши изымалась селезёнка и измельчалась в гомогенизаторе. Подсчёт количества выделенных спленоцитов проводился на счётчике и анализаторе жизнеспособности клеток, Luna-II (Logos Biosystems, South Korea). Выделение В-клеток из общего пула спленоцитов проводилось методом магнитной сортировки с помощью набора EasySep Mouse Pan-B Cell Isolation Kit (StemCell technologies, Canada) на магните MojoSort Magnetic cell separation system (Biolegend, USA). Подсчёт количества выделенных В-клеток проводился на счётчике и анализаторе жизнеспособности клеток, Luna-II (Logos Biosystems, South Korea).

#### **1.1.4.2 Окрашивание В-клеток для последующего разделения на субпопуляции**

Окрашивание В-клеток проводилось сразу после их выделения методом магнитной сортировки. Окраска проводилась по следующим маркёрам: CD45.2, CD19, CD43, CD5, помимо этого использовался Fc-блок для исключения связывания красителя с Fc-рецепторами клеток и витальный краситель для оценки количества живых клеток.

В качестве Fc-блока использовались антитела Purified Anti-Mouse CD16/32 Antibody (Elabscience, China). Антитела добавлялись в объёме 4 мкл на  $10^6$  клеток. Время инкубации составило 45 мин.

Для окраски маркёра CD45.2 использовался краситель PE/Cyanine 7 Anti-Mouse CD 45.2 Antibody (Elabscience, China). Краситель добавлялся в объёме 5 мкл на  $10^6$  клеток. Для окраски маркёра CD19 использовался краситель APC/Cyanine7 anti-mouse (Biolegend, USA). Краситель добавлялся в объёме 5 мкл на  $10^6$  клеток. Для окраски маркёра CD43 использовался краситель PE anti-mouse CD43 Activation-Associated Glucoform (Biolegend, USA). Краситель добавлялся в объёме 1.25 мкл на  $10^6$  клеток. Для окраски маркёра CD5 использовался краситель Brilliant Violet 421™ anti-mouse (Biolegend, USA). Краситель добавлялся в объёме 0.15 мкл на  $10^6$  клеток. Время инкубации всех красителей составляло 30 мин.

В качестве витального красителя использовался NucBlue Live ReadyProbes Reagent. Краситель добавлялся в объёме 2 капли на мл. Инкубация составляла 15 мин.

#### **1.1.4.3 Сортировка В-клеток на отдельные субпопуляции и их культивация**

После окраски В-клеток проводилось их разделение на популяции с помощью клеточного сортера Sony SH800. Сортировались только живые клетки. Сортировка клеток проводилась на следующие субпопуляции: B2 (CD45.2+, CD19+, CD43-), B1 (CD45.2+, CD19+, CD43+), B1a (CD45.2+, CD19+, CD43+, CD5+) и B1b (CD45.2+, CD19+, CD43+, CD5-).

Культивация клеток проводилась на среде IMDM с добавлением глутамакса (3%) и антибиотика-антимикотика (2%). Помимо этого, в среду были добавлены FBS (10%) и агонист TLR-9 – CpG ODN 2006 (Miltenyi Biotec), для стимуляции антителопродукции в концентрации 5 мкг/мл.

### **1.2 Экспериментальная работа с плазмой крови людей**

#### **1.2.1 Пациенты и здоровые доноры**

В рамках выполнения настоящей работы использовалась плазма крови пациентов с СКВ (n=60), РС (n=55), шизофренией (n=50) и здоровых доноров (n=35). Плазма крови пациентов с СКВ получена из ФГНБУ НИИФКИ, Новосибирск. Плазма крови пациентов с РС получена из Областного центра неврологии и нейрохирургии Новосибирской областной больницы. Плазма крови пациентов с шизофренией и здоровых доноров получена из НИИ Психического здоровья ТНИМЦ, Томск. Диагностикой всех пациентов занимались квалифицированные врачи.

#### **1.2.2 Измерение концентрации цитокинов и антител к ДНК в плазме крови пациентов и здоровых доноров**

Концентрация цитокинов в плазме крови пациентов и здоровых доноров определялась методом мультиплексного анализа на приборе MAGPIX Multiplexing Instrument (Luminex, Austin, TX, USA) с помощью двух наборов: на 41 цитокин (MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel-Premixed 41 Plex (Merck Millipore, Darmstadt, Germany)) и на 15 цитокинов (Human Premixed Multi-Analyte Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

#### **1.2.3 Измерение каталитической активности антител в плазме крови пациентов и здоровых доноров**

Антитела из плазмы крови пациентов и здоровых доноров выделялись методом аффинной хроматографии на колонке с Protein G-сефарозой. ДНК-гидролизующая активность антител определялась методом агарозного гель-электрофореза [11]. Гистон-гидролизующая активность антител определялась методом гель-фореза в 15% ПААГ [12].

#### **1.2.4 Выделение и измерение концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови пациентов с нейроиммунными патологиями и здоровых доноров**

Выделение внеклеточной ДНК из плазмы крови проводилось с помощью набора D-Blood-250 (Биолабмикс, Россия) по инструкции производителя. Анализ концентрации внеклеточной ДНК проводился с помощью набора Qubit dsDNA High Sensitivity Assay Kit на флуориметре Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, Германия).

### 1.3 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась в программах MS Excel 2016 и OriginPro 2021. Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения значений двух несвязанных выборок с нормальным распределением использовался t-test Стьюдента, для сравнения значений двух несвязанных выборок с ненормальным распределением использовался U-test Манна-Уитни. Для сравнения значений более двух выборок с нормальным распределением использовался тест One-way ANOVA, для сравнения значений более двух выборок с ненормальным распределением использовался тест Краскал-Уоллиса ANOVA. Для сравнения значений двух связанных выборок с нормальным распределением использовался t-test Стьюдента, для сравнения значений двух связанных выборок с ненормальным распределением использовался тест связанных рангов Уилкоксона. Для определения корреляционных взаимоотношений между двумя выборками с нормальным распределением использовался тест Пирсона, для определения корреляционных взаимоотношений между двумя выборками с ненормальным распределением использовался тест Спирмена.

## 2. Результаты и их обсуждение

### 2.1 Результаты экспериментальной работы с плазмой пациентов и здоровых доноров

#### 2.1.1 Измерение каталитической активности IgG в плазме крови пациентов и здоровых доноров

##### 2.1.1.1 Измерение ДНК-гидролизующей активности IgG в плазме крови пациентов и здоровых доноров

В ходе измерения ДНК-гидролизующей активности IgG из плазмы крови пациентов с шизофренией, РС, СКВ и здоровых доноров установлено, что при всех этих патологиях уровень каталитической активности антител был статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров. Уровень ДНК-гидролизующей активности среди патологий распределялся следующим образом: РС << СКВ < шизофрения. Активность IgG из плазмы крови пациентов с СКВ и шизофренией достоверно выше, чем при РС. Активность при шизофрении была выше, чем при СКВ, но достоверно не отличалась. Р-значения достоверности различий приведены на Рисунке 1. Результаты измерений подтверждают гипотезу о том, что при нейроиммунных патологиях увеличивается ДНК-гидролизующая активность IgG в крови пациентов. Одной из возможных причин этого повышения может служить повышение концентрации вкДНК при шизофрении [13] и СКВ [14]. При этом для РС такого повышения не отмечается [15]. Этим фактом можно объяснить то, что повышение ДНК-гидролизующей активности IgG у пациентов с РС не настолько выражено, как у пациентов с шизофренией или СКВ. Несмотря на невыраженность повышения, ДНК-гидролизующая активность IgG пациентов с РС статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров. Одним из вариантов объяснения этого может быть наличие ряда кросс-реактивностей с другими антигенами. Ещё одним вопросом, возникающим при изучении Рисунка 6, является то, почему при СКВ, конвенциональном воспалительном заболевании, каталитическая активность IgG в плазме крови ниже, чем при шизофрении, которая таковым заболеванием не является. Ответ на этот вопрос скорее всего кроется в терапии, которую принимают пациенты. Существует вероятность, что стероидная и нестероидная противовоспалительная терапия, которую назначают при СКВ, влияет на каталитическую активность антител. В то же время при шизофрении основные препараты — это антипсихотики первого и второго ряда, которые обладают небольшой противовоспалительной активностью, но их основной механизм действия заключается не в этом.

Как можно заметить на Рисунке 1, уровень ДНКазной активности антител пациентов с СКВ неоднороден, в отличие от антител пациентов с шизофренией. Выделяются две чётко очерченные группы. У одних пациентов эта активность практически равна таковой у здоровых доноров, а у других значительно превышает не только её, но и активность антител пациентов с шизофренией. Более подробно эти результаты будут обсуждены ниже в параграфе, посвящённом гистон-гидролизующей активности антител.

## ДНКазная активность IgG в сыворотке крови

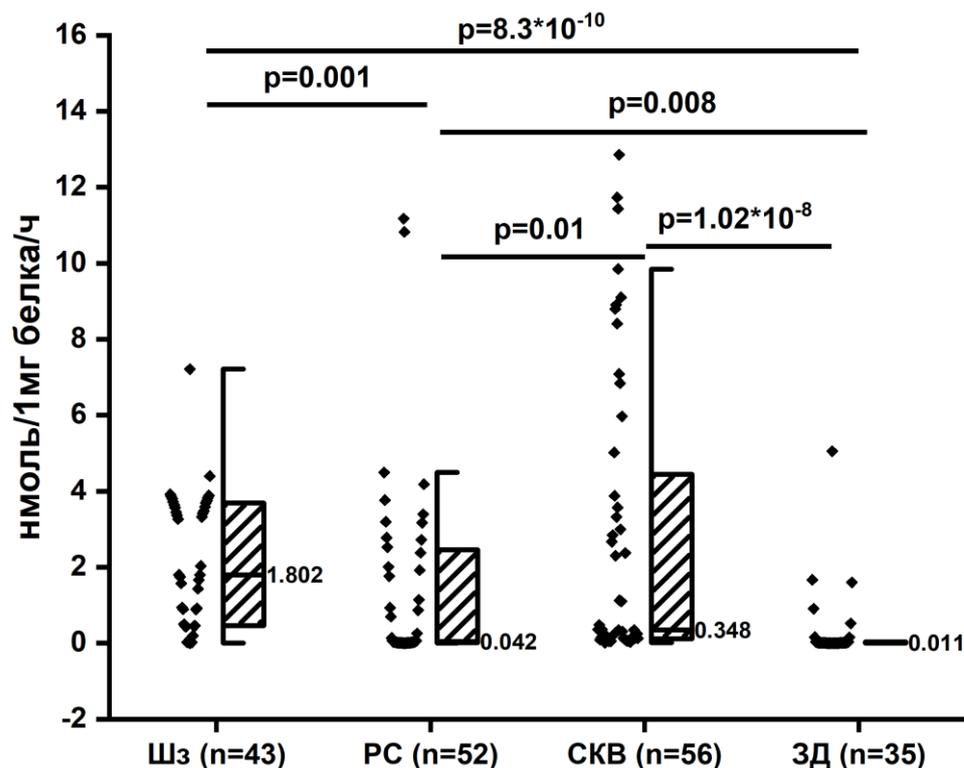


Рисунок 1. Результаты измерения ДНК-гидролизующей активности IgG из плазмы крови пациентов с шизофренией (Шз), рассеянным склерозом (РС), системной красной волчанкой (СКВ) и здоровых доноров (ЗД). Результаты представлены в виде медианных значений. Достоверность различий определялась с помощью критерия Краскела-Уоллиса.

### 2.1.1.2 Измерение гистон-гидролизующей активности IgG в плазме крови пациентов и здоровых доноров

Результаты измерения гистон-гидролизующей активности IgG из плазмы крови пациентов и здоровых доноров показало существование определённого паттерна (Рисунок 2). Наиболее активными являлись антитела IgG, выделенные из плазмы больных шизофренией. Активность гидролиза всех четырёх исследованных гистонов (Н1, Н2А, Н2В и Н4) антителами пациентов с шизофренией была статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров. То же можно сказать и про антитела, выделенные из плазмы пациентов с СКВ. При этом медианное значение гидролитической активности (нмоль/мг белка/час) у пациентов с шизофренией выше, чем у пациентов с СКВ. Для гистона Н4 эта разница была статистически значимой (Рисунок 2г). Объяснение тому, почему при шизофрении, которая не является конвенциональным воспалительным заболеванием, каталитическая активность IgG в плазме крови пациентов выше, чем при СКВ, скорее всего кроется в действии терапии, как это описано выше в параграфе, посвящённом ДНКазной активности.

Как можно заметить на Рисунке 2, уровень гистон-гидролизующей активности антител пациентов с СКВ неоднороден, в отличие от антител пациентов с шизофренией: выделяются две чётко очерченные группы. У одних пациентов эта активность практически равна таковой у здоровых доноров, а у других значительно превышает не только её, но и активность антител пациентов с шизофренией. Помимо этого, стоит отметить, что по

большей части это одни и те же пациенты, так как между значениями активности гидролиза различных гистонов наблюдается достаточно выраженная прямая корреляция. Результаты корреляционных исследований будут описаны ниже.

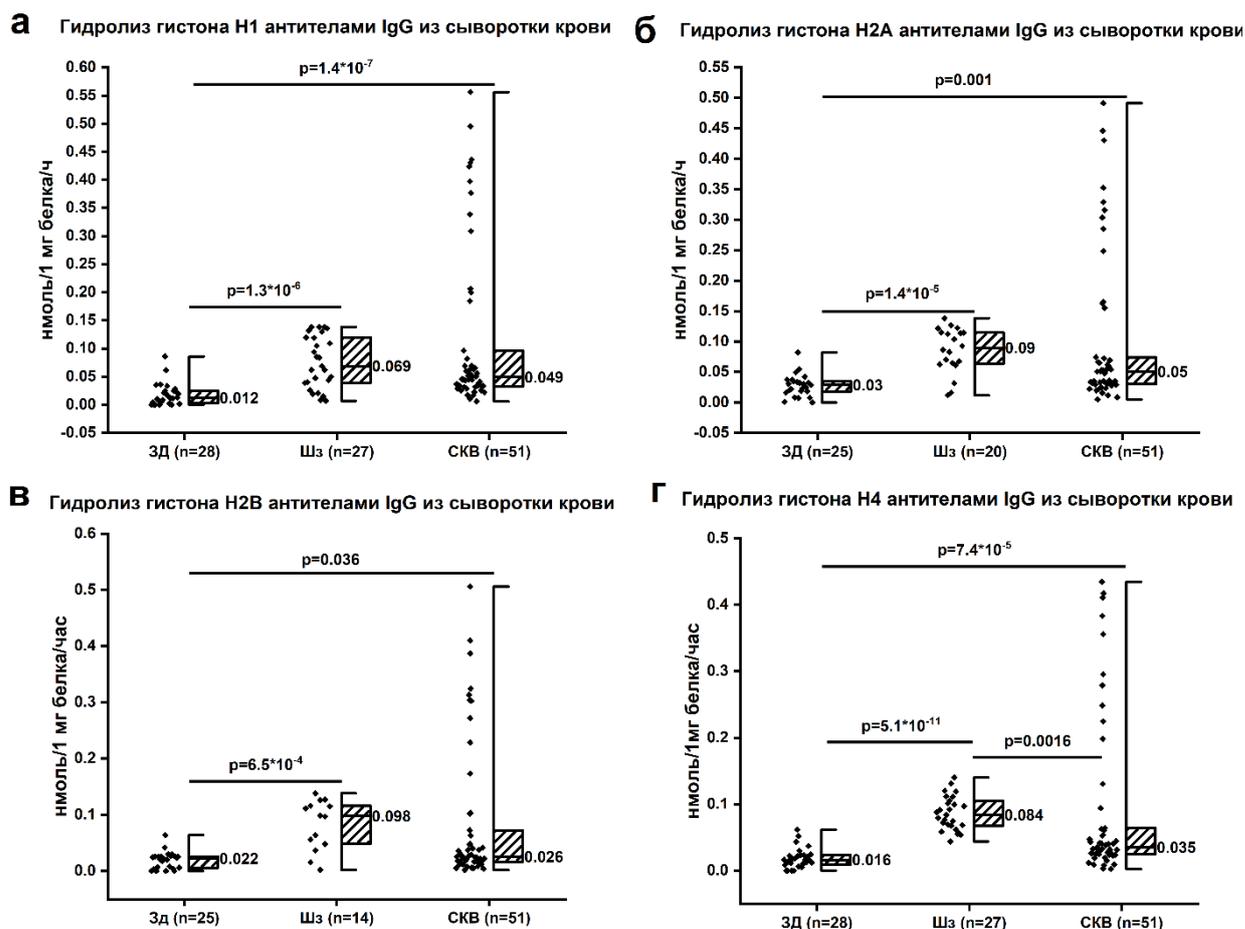


Рисунок 2. Уровень гидролитической активности гистонов H1 (а), H2A (б), H2B (в), H4 (г) антителами IgG пациентов с шизофренией, СКВ и здоровых доноров. Результаты представлены в виде медианных значений. Достоверность различий определялась с помощью критерия Краскела-Уоллиса.

## 2.1.2 Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнями гидролитической активности антител, цитокинами в плазме крови и клинико-anamнестическими данными пациентов и здоровых доноров

### 2.1.2.1 Системная красная волчанка

Несмотря на огромное количество измеренных цитокинов для пациентов с СКВ ( $n=41+15=56$ ), большинство из них не продемонстрировали каких бы то ни было значимых корреляционных связей с каталитическими активностями антител. Для ДНК-гидролизующей активности антител наблюдалось несколько статистически достоверных обратных корреляций с рядом цитокинов: MDC (Macrophage-derived protein); IL-8 и MIP-1a (macrophage inflammatory protein) (Таблица 1). Все эти цитокины являются хемокинами, стимулирующими миграцию макрофагов в очаг поражения. Помимо этого, IL-8 привлекает в очаг поражения нейтрофилы. Одна из возможных причин такой обратной зависимости может заключаться в том, что при активном воспалительном процессе, который сопровождает СКВ, иммунокомпетентные клетки, отвечающие за клиренс апоптотического и некротического материала (в том числе макрофаги) мигрируют на периферию в очаг

поражения. Это вызвано в том числе и тем, что туда их привлекают описанные выше хемокины. Если рассматривать ДНКазную активность IgG, как один из механизмов клиренса вкДНК, то можно сделать вывод, что при миграции макрофагов в очаги поражения компенсаторно возрастает активность антител-зависимого клиренса вкДНК в кровотоке. Данное предположение подтверждает гипотезу о том, что каталитические антитела не являются непосредственными участниками патологического процесса. Это косвенно подтверждается ещё и тем фактом, что не было обнаружено корреляционных взаимоотношений между каталитической активностью антител и активностью заболевания, выраженной в шкале SELENA-SLEDAI (Таблица 1). Помимо этого, существует статистически значимая прямая корреляция между ДНКазной активностью антител пациентов с СКВ и концентрацией антител к одно- и двуцепочечной ДНК (Таблица 1). Это согласуется с гипотезой о том, что повышение концентрации вкДНК в крови пациентов стимулирует образование не только антител против ДНК с конвенциональной активностью, но и каталитических антител. Однако, как указано выше, каталитически активные антитела не являются одним из выраженных звеньев патогенеза СКВ. На это указывают результаты о том, что концентрация антител к двуцепочечной ДНК прямо коррелирует с выраженностью заболевания по шкале SELENA-SLEDAI, а ДНК-гидролизующая активность антител — нет (Таблица 1).

Для гистон-гидролизующих активностей ярко-выраженных корреляционных взаимоотношений с цитокинами одной группы выявлено не было. Помимо этого, все каталитические активности имели выраженные статистически значимые прямые корреляции между собой (Таблица 2). Этот результат подтверждает, что выраженная группа пациентов с высокими ДНК-гидролизующей (Рисунок 1) и гистон-гидролизующими активностями (Рисунок 2) являются по большей части одними и теми же пациентами.

Таблица 1. Корреляционные взаимоотношения между каталитическими активностями антител пациентов с СКВ, цитокинами и антителами против ДНК. R — коэффициент корреляции. Достоверность корреляции определялась с помощью критерия Спирмена.

	MDC	IL-8	MIP-1a	Анти- оцДНК АТ	Анти- дцДНК АТ	SELENA- SLEDAI
Гидролиз ДНК	<b>R=-0.36</b> <b>p=0.008</b>	<b>R=-0.27</b> <b>p=0.048</b>	<b>R=-0.3</b> <b>p=0.03</b>	<b>R=0.039</b> <b>p=0.037</b>	<b>R=0.4</b> <b>p=0.032</b>	R=-0.07 p=0.64
Гидролиз H1			<b>R=-0.31</b> <b>p=0.046</b>			
Гидролиз H2A						
Гидролиз H2B						
Гидролиз H4						
SELENA- SLEDAI					<b>R=0.39</b> <b>p=0.038</b>	
Анти- дцДНК АТ						

Таблица 2. Корреляционные взаимоотношения между каталитическими активностями IgG из плазмы крови пациентов с СКВ. R – коэффициент корреляции. Достоверность корреляции определялась с помощью критерия Спирмена.

	Гидролиз ДНК	Гидролиз Н1	Гидролиз Н2А	Гидролиз Н2В	Гидролиз Н4
Гидролиз ДНК	—				
Гидролиз Н1	<b>R=0.51</b> <b>p=3.55×10<sup>-4</sup></b>	—			
Гидролиз Н2А	<b>R=0.6</b> <b>p=1.66×10<sup>-5</sup></b>	<b>R=0.88</b> <b>p=3.23×10<sup>-15</sup></b>	—		
Гидролиз Н2В	<b>R=0.53</b> <b>p=2.05×10<sup>-4</sup></b>	<b>R=0.85</b> <b>p=4.3×10<sup>-13</sup></b>	<b>R=0.81</b> <b>p=2×10<sup>-11</sup></b>	—	
Гидролиз Н4	<b>R=0.39</b> <b>p=0.007</b>	<b>R=0.63</b> <b>p=3.01×10<sup>-6</sup></b>	<b>R=0.68</b> <b>p=2.18×10<sup>-7</sup></b>	<b>R=0.72</b> <b>p=2.06×10<sup>-8</sup></b>	—

### 2.1.2.2. Рассеянный склероз, шизофрения, здоровые доноры

Для пациентов с РС исследована только ДНК-гидролизующая активность антител из плазмы крови. Не было выявлено каких-то выраженных корреляционных взаимоотношений между каталитической активностью антител и цитокинами, которые можно объединить в одну группу по своим функциям. Однако, показана статистически достоверная положительная корреляция с обоими исследованными тромбоцитарными факторами роста: PDGF AA ( $R=0.54$ ,  $p=9.32 \times 10^{-5}$ ), PDGF-AB/BB ( $R=0.47$ ,  $p=8.2 \times 10^{-4}$ ). В настоящее время считается, что повышение уровня PDGF в крови пациентов с РС связан с более продолжительными периодами без рецидивов [16]. Это является ещё одним подтверждением того, что, скорее всего, каталитически антитела не являются непосредственными участниками развития заболевания.

Несмотря на то, что антитела из плазмы крови пациентов с шизофренией обладали самыми высокими каталитическими активностями, не было обнаружено каких бы то ни было значимых корреляционных взаимодействий между ними и цитокинами. Возможно, это связано с тем, что иммунный ответ при шизофрении не настолько ярко выражен, как при конвенциональных воспалительных заболеваниях: РС и СКВ. У здоровых доноров также не было обнаружено статистически значимых корреляций между каталитическими активностями IgG из плазмы крови и цитокинами.

Отдельного внимания заслуживает тот факт, что ярко-выраженные прямые корреляции между ДНКазной и четырьмя гистон-гидролизующими активностями встречается только при СКВ (Таблица 2). При шизофрении и у здоровых доноров существуют статистически достоверные прямые корреляции только между четырьмя гистон-гидролизующими активностями, при этом ДНКазная активность не коррелирует ни с одной из них (Таблица 3). Это может говорить о том, что на усиление этих активностей при шизофрении и при СКВ влияют разные механизмы. Возможно у пациентов с СКВ более распространён антиген, представляющий собой комплекс ДНК и гистонов из-за более яркого характера поражения клеток, тогда как при шизофрении эти антигены встречаются в более разрозненном виде.

Таблица 3. Корреляционные взаимоотношения между гистон-гидролизующими активностями IgG из плазмы крови пациентов с шизофренией. R — коэффициент корреляции. Жирным выделены статистически достоверные корреляции. Достоверность корреляции определялась с помощью критерия Спирмена.

	Гидролиз ДНК		Гидролиз Н1	Гидролиз Н2А	Гидролиз Н2В	Гидролиз Н4
Гидролиз ДНК	—					
Гидролиз Н1	R=0.27 p=0.19		—			
Гидролиз Н2А	R=-0.17 p=0.49		<b>R=0.9</b> <b>p=1.34×10<sup>-7</sup></b>	—		
Гидролиз Н2В	R=-0.04 p=0.9		<b>R=0.85</b> <b>p=1.16×10<sup>-4</sup></b>	<b>R=0.9</b> <b>p=9.56×10<sup>-6</sup></b>	—	
Гидролиз Н4	R=0.26 p=0.21		<b>R=0.71</b> <b>p=5.65×10<sup>-5</sup></b>	<b>R=0.51</b> <b>p=0.029</b>	R=0.41 p=0.17	—

### 2.1.3 Анализ концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови пациентов с системной красной волчанкой и здоровых доноров

Концентрация вкДНК в плазме крови пациентов с СКВ была достоверно выше, чем у здоровых доноров (Рисунок 3). На данный момент считается, что внеклеточная ДНК может быть одним из самых значимых триггеров для формирования аутоиммунной реакции при СКВ [9]. Эта гипотеза основана на том, что патогномичным признаком является крайне сильное повышение титра антител к одноцепочечной и двуцепочечной ДНК [...]. Нами также показано, что у пациентов с СКВ частота встречаемости и медианные значения концентрации антител к одноцепочечной и двуцепочечной ДНК значительно выше, чем у пациентов с другими нейроиммунными патологиями и здоровых доноров (эти результаты не включены в настоящий текст).

### Концентрация вк-ДНК в плазме крови

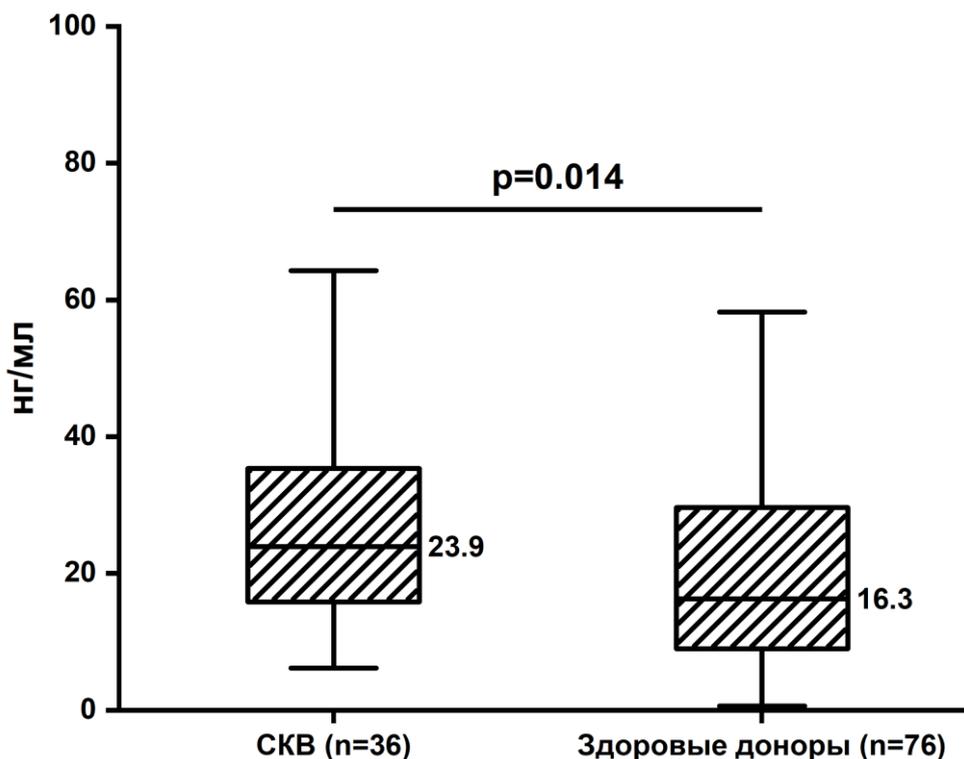


Рисунок 3. Концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и здоровых доноров. Достоверность различий определялась с помощью U-критерия Манна-Уитни.

#### 2.1.4 Анализ межцитокиновых взаимодействий при системной красной волчанке, рассеянном склерозе и у здоровых доноров.

Цитокины в организме функционируют в составе взаимосвязанных цитокиновых сетей. Изменения некоторых цитокинов способствуют изменению концентрации других цитокинов. В ходе проведения статистической обработки данных результатов, полученных при измерении концентрации цитокинов, установлено, что при различных нейроиммунных патологиях формируются обширные корреляционные сети цитокинов, которых нет у здоровых доноров (Рисунок 4). Как можно видеть на Рисунке 4, у здоровых доноров присутствует крайне малое количество корреляционных взаимоотношений между цитокинами. А те, что есть, находятся в разрозненном состоянии и не формируют больших сетей. При РС и СКВ большая часть цитокинов участвует в межцитокиновом взаимодействии. Для СКВ наблюдается одна огромная цитокиновая сеть, в то время как для РС показаны две большие отдельные цитокиновые сети и одна маленькая. Увеличение размера цитокиновых сетей свидетельствует о широкомасштабном взаимосвязанном вовлечении иммунитета в патогенез этих патологий, что подразумевается под системным воспалением. Одна большая цитокиновая сеть при СКВ отражает характер заболевания, при котором системный воспалительный ответ выражен крайне ярко [17]. Несколько разрозненных цитокиновых сетей при РС могут свидетельствовать о менее выраженных, чем при СКВ, системных процессах, однако об их более тонкой организации.

Заслуживают внимания данные о том, что цитокины, с которыми формируются корреляционные взаимоотношения у ДНКазной активности IgG в плазме крови пациентов с СКВ (MDC, IL-8, MIP-1a (обведены зелёными кругами)) демонстрируют крайне невыраженную вовлечённость в межцитокиновые взаимодействия. IL-8 достаточно слабо связан с одним цитокином из общей корреляционной сети, что видно по цвету линии. MDC и MIP-1a вообще находятся вне корреляционной сети. Это ещё раз подтверждает, что ДНКазная активность IgG не имеет вовлечённости в патологический процесс, а существует как отдельная независимая активность.

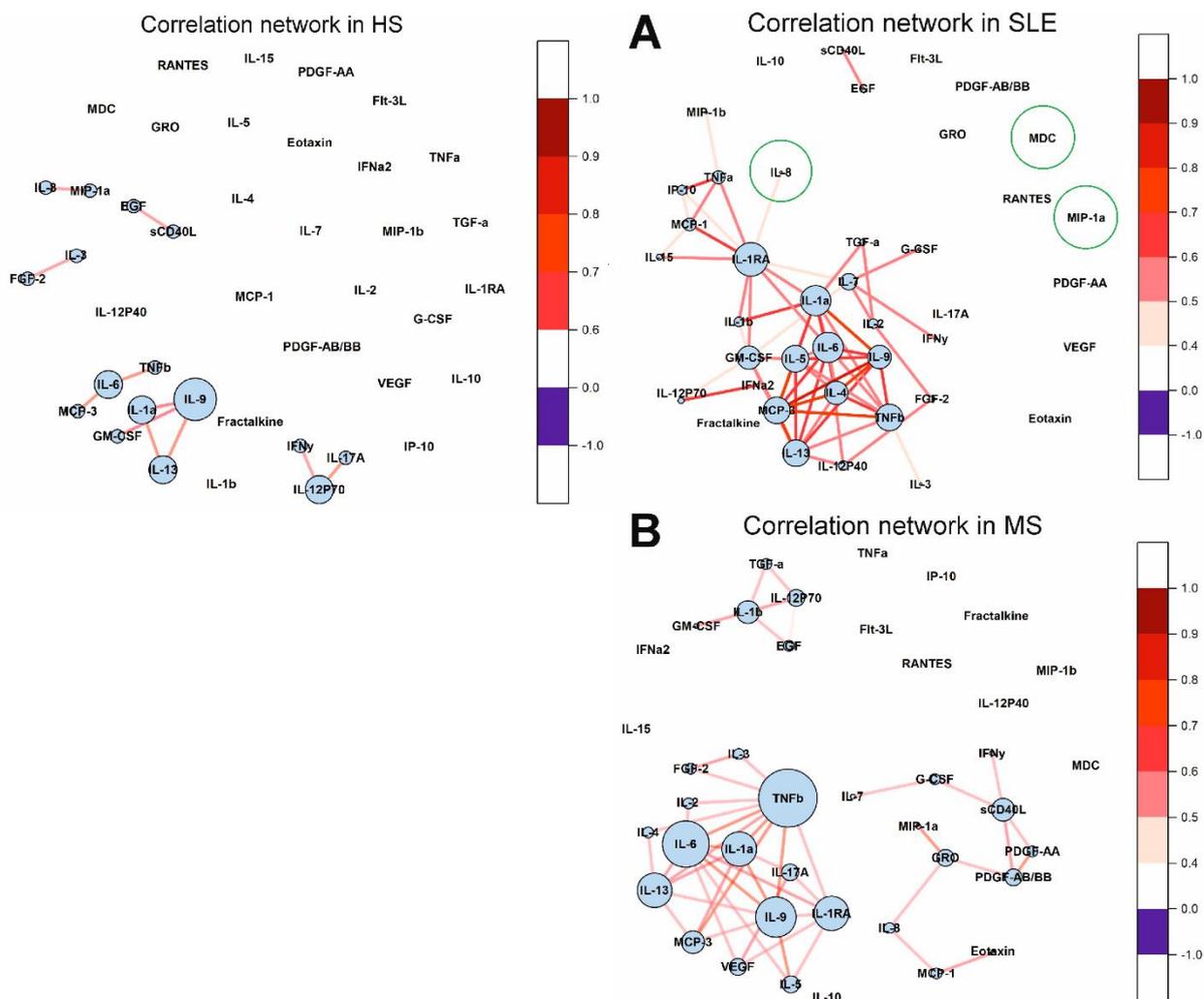


Рисунок 4. Межцитокиновые корреляционные сети при СКВ, РС и у здоровых доноров. Яркость линий обозначает выраженность корреляции. Размер круга обозначает, сколько цитокинов коррелируют с этим цитокином. Зелёными кругами отмечены цитокины, которые коррелируют с ДНКазной активностью IgG в плазме крови пациентов с СКВ. Достоверность корреляции определялась с помощью критерия Спирмена. (Рисунок взят из статьи автора настоящего научного доклада [18]).

## 2.2 Результаты экспериментальной работы с лабораторными животными

### 2.2.1 Клиническое состояние иммунизированных мышей

Мыши, прошедшие иммунизацию пристаном показывали выраженное изменение своего состояния по сравнению с мышами из контрольной группы. Изменение веса лабораторных животных представлено на Рисунке 5. Ежедневное измерение веса животных показало, что особи из экспериментальной группы практически всегда

статистически значимо тяжелее, чем особи из контрольной группы (статистическая значимость на Рисунке 5 не указана). Увеличение веса согласуется с литературными данными для модели СКВ, вызванной иммунизацией пристаном [19]. У мышей из экспериментальной группы увеличение массы тела происходило за счёт накопления жировой ткани в абдоминальной области. Основной причиной увеличения массы тела мышей из экспериментальной группы может быть повышение потребления пищи, вызванной стрессом, сформировавшимся на фоне болезни.

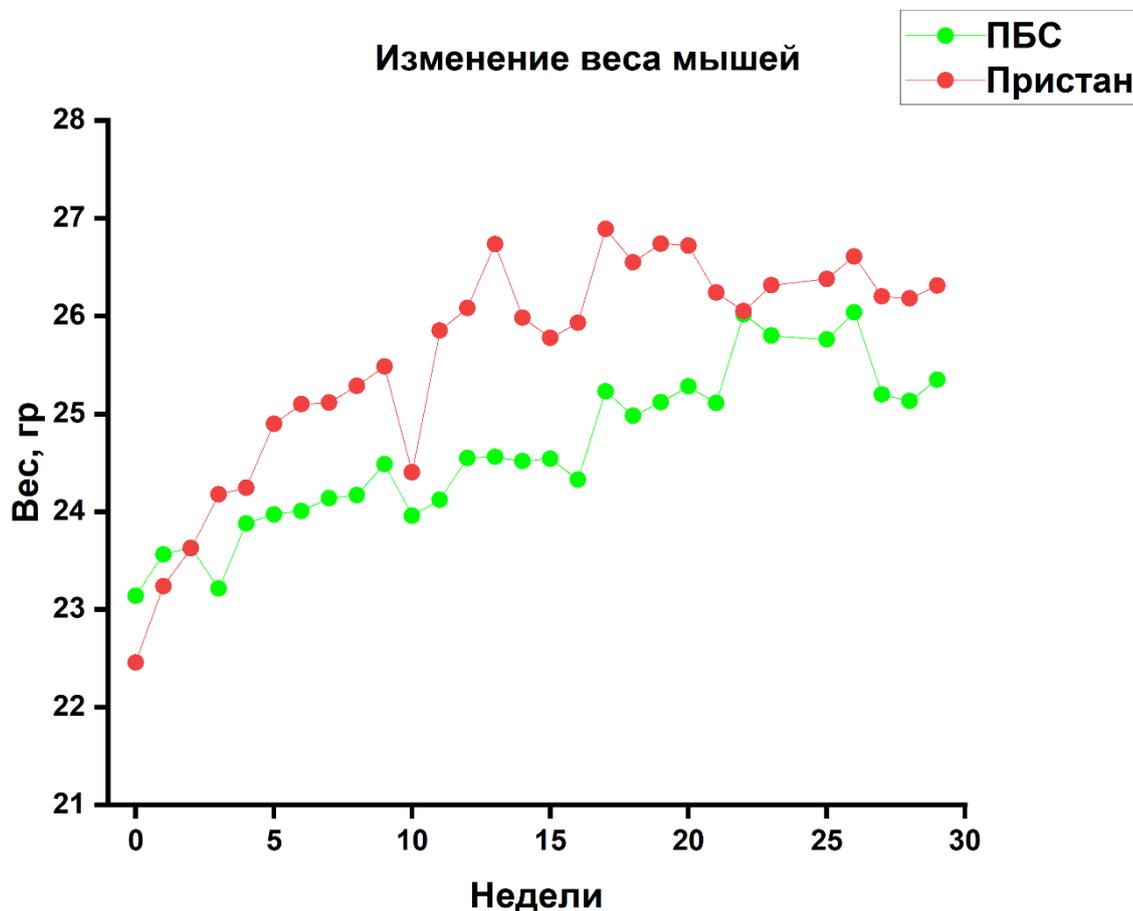


Рис. 5. Изменение массы тела мышей по неделям в контрольной (зелёные точки) и экспериментальной (красные точки) группах. Результаты представлены в виде медианных значений. Статистическая достоверность различий на рисунке не представлена.

На 5 неделю после иммунизации две мыши из экспериментальной группы приобрели выраженную очаговую алопецию (Рисунок 6а). Поражения кожи встречаются как на модели СКВ, вызванной пристаном, так и у людей с СКВ. Количество мышей из экспериментальной группы с выраженной очаговой алопецией примерно соответствует литературным данным [20]. На 28 неделю после иммунизации у большинства мышей из экспериментальной группы начала редеть шерсть (Рисунок 6б). Это также укладывается в картину кожных проявлений модели СКВ, вызванной пристаном.



Рис. 6. (а) Очаговая алопеция одной из двух мышей из экспериментальной группы, начавшаяся в пятую неделю после иммунизации. Для сравнения в кадре продемонстрирована мышь со здоровым шерстяным покровом. Жёлтое пятно на правом боку мыши не следствие болезни, а является красителем для помощи в различии мышей в одной клетке. (б) Изменение шерстяного покрова одной из мышей из экспериментальной группы, начавшийся в 28 неделю после иммунизации.

### 2.2.2 Изменение уровня внеклеточной ДНК в плазме крови лабораторных животных

Концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей из экспериментальной и контрольных групп продемонстрировало необычные изменения (Рисунок 7). На данный момент в мировой литературе нет работ, посвящённых изменению концентрации внеклеточной ДНК у мышей, иммунизированных пристаном в течение времени. Однако, у людей с СКВ она увеличивается по сравнению со здоровыми донорами [21], поскольку является неспецифической реакцией на протекающие воспалительные процессы.

Несмотря на то, что на 14 неделю после иммунизации в плазме мышей из экспериментальной группы концентрация внеклеточной ДНК была более чем в два раза выше, статистически значимых достоверных различий не наблюдалось. То же самое касается и концентрации внеклеточной ДНК в плазме мышей из контрольной группы в 22 неделю после иммунизации. Это связано с большим разбросом полученных значений.

Однако, как видно из графика (Рисунок 7), концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей из обеих групп значительно менялась внутри групп. Как видно изначально две группы были крайне похожи с практически одинаковыми значениями концентраций внеклеточной ДНК в плазме (22.6 и 22.8 нг/мл). Значительные изменения в обеих группах начались в 8 неделю после иммунизации. С 8 по 14 неделю после иммунизации концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей в обеих группах значительно выросла. На 14 неделю после иммунизации график укладывается в гипотезу о том, как

изменяется концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей на модели иммунизации пристаном. Поскольку, как отмечалось выше, на данный момент нет литературных данных на эту тему, была выдвинута гипотеза, что концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови будет повышаться как у мышей из контрольной группы, так и у мышей из экспериментальной группы. Однако, у мышей из экспериментальной группы это повышение должно быть более выраженным. Повышение же концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови у мышей из контрольной группы планировалось связать с тем, что концентрация внеклеточной ДНК у людей имеет тенденцию увеличиваться с возрастом [22].

Во временной промежуток между 14 и 22 неделями концентрация внеклеточной ДНК у мышей из контрольной группы продолжила расти, но при этом статистически достоверных значений этот рост не достигал ( $p=0.13$ ). Однако, у мышей из экспериментальной группы произошло неожиданное снижение концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови с медианного значения 254 нг/мл до 89.7 нг/мл, и это снижение оказалось статистически достоверным.

Во временной промежуток между 22 и 28 неделями концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей из экспериментальной группы продолжила снижаться с медианного значения 89.7 нг/мл до 32.3. Однако это снижение было хоть и выраженным, но статистически недостоверным ( $p=0.06$ ). Самое удивительное, что концентрация внеклеточной ДНК в плазме крови мышей контрольной группы начала статистически достоверно снижаться с медианного значения 238 нг/мл до 29.47 нг/мл.

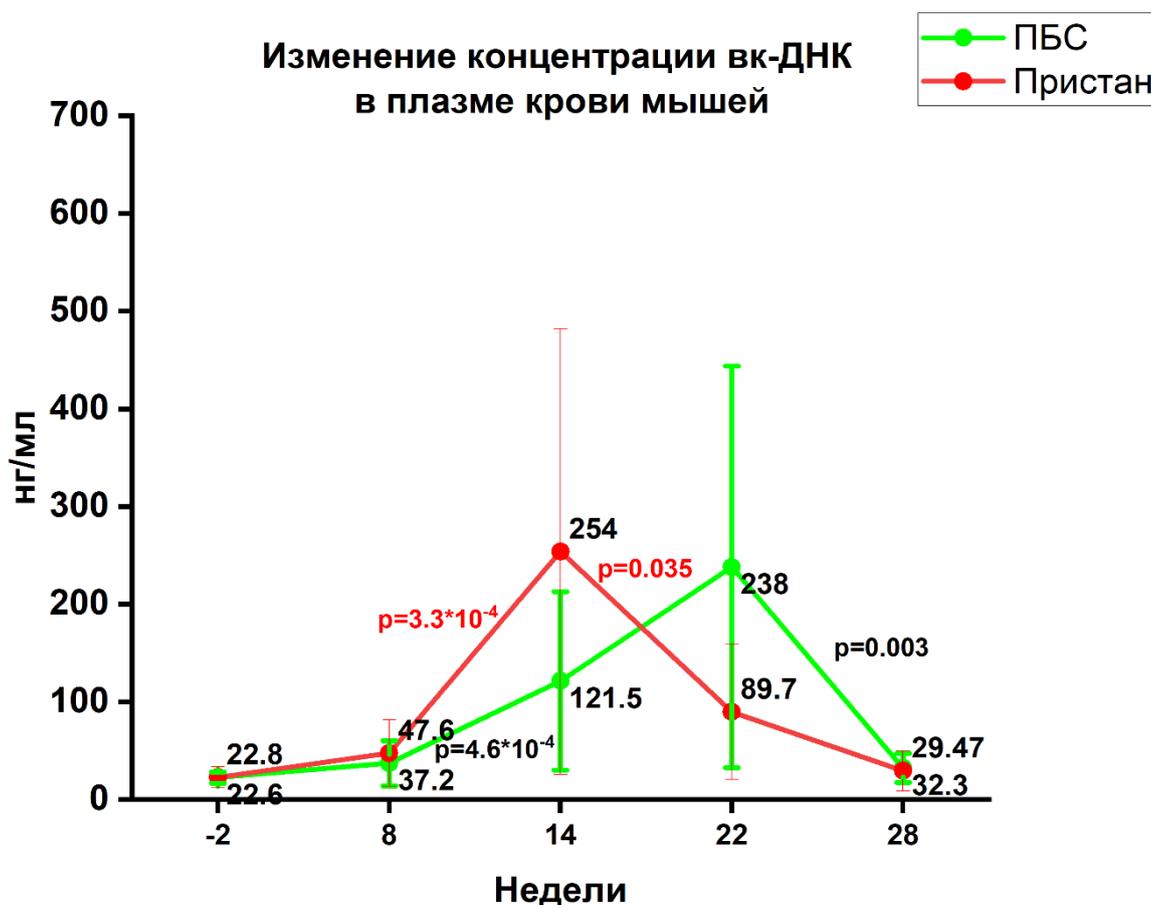


Рис. 7. Изменение концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови мышей из экспериментальной и контрольной групп с течением времени. Точками обозначены медианные значения концентрации внеклеточной ДНК в конкретную неделю (красные точки — экспериментальная группа, зелёная — контрольная группа). Вертикальные линии — абсолютное медианное отклонение. Р-значения красного цвета обозначают достоверность изменения концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови мышей между соседними периодами времени в экспериментальной группе, р-значения чёрного цвета — в контрольной. Достоверность различий подсчитана с помощью теста связанных рангов Вилкоксона.

Поскольку это первая подобная работа, на данный момент крайне трудно объяснить полученные результаты. Как указано выше, предполагалось, что концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови мышей в экспериментальной и контрольной группах будут расти в каждую временную точку, однако для экспериментальной группы этот рост будет происходить более выражено. Для того, чтобы обоснованно объяснить этот результат, надо провести исследование концентрации антител к ДНК в плазме крови мышей. Данная работа будет выполнена позже. Однако, если обратить внимание на изменение веса мышей (Рисунок 5), можно заметить, что своего максимального веса мыши из экспериментальной группы достигли в районе 14 недели после иммунизации, после чего их вес вышел на плато. То же самое можно сказать и для контрольной группы. На данный момент проведения эксперимента своего максимального веса они достигли в районе 22 недели, после чего он вышел на плато. Как видно из Рисунка 5 и Рисунка 7 временные промежутки набора веса и увеличения концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови, а также временные промежутки стабилизации веса и снижения концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови тесно пересекаются. В ходе проведения корреляционного анализа установлено, что существует прямая статистически достоверная взаимосвязь между изменением массы тела мышей из экспериментальной и контрольной групп и изменением концентрации внеклеточной ДНК в плазме в период со 2 по 14 недели после иммунизации (Рисунок 8). При этом у мышей из экспериментальной группы эта корреляция оказалась сильнее, что может быть связано с тем, что набор массы тела происходил в том числе за счёт прироста жировой ткани в абдоминальной области.

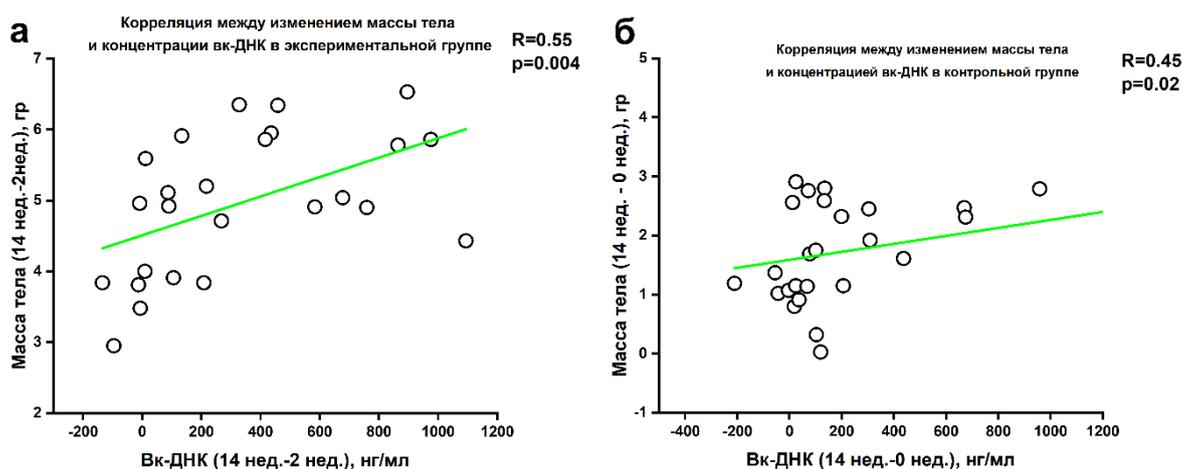


Рис. 8. Корреляция между изменением массы тела и концентрации вкДНК в плазме крови мышей из экспериментальной и контрольной групп со 2 по 14 недели. Кружки – значения для каждой отдельной особи. Зелёная линия отображает общую тенденцию взаимосвязи. R – коэффициент корреляции. Корреляционные взаимоотношения подсчитаны с помощью теста Спирмена.

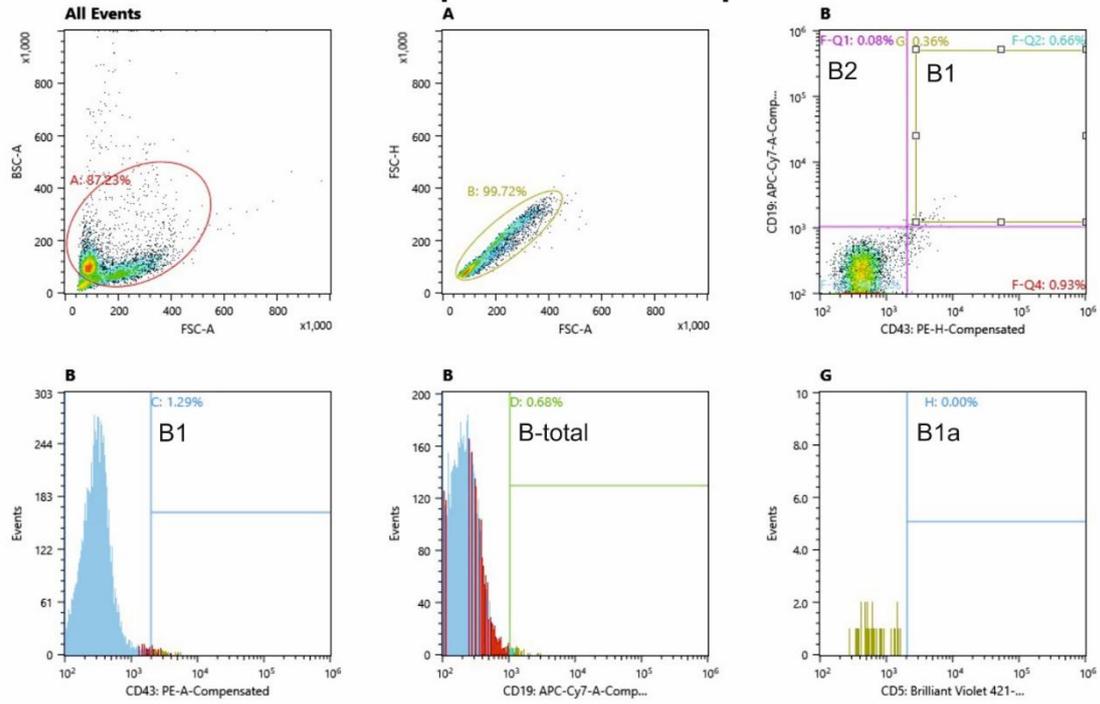
### 2.2.3 Выделение различных субпопуляций В-клеток из селезёнок лабораторных мышей

После проведения магнитной сепарации и окрашивания проведена сортировка В-клеток на отдельные субпопуляции с помощью клеточного сортера. Как можно видеть на Рисунке 9а, неокрашенные клетки не давали сигналов ни по одному из используемых маркёров. Общий пул В-клеток разделялся на В1-клетки (CD19+CD43+) и В2-клетки (CD19+CD43-) с примерным соотношением 5:2 (Рисунок 9бВ). Подавляющее большинство В2-клеток соответствует литературным данным [23] и объясняется тем, что именно В2-клетки отвечают за последующую секрецию конвенциональных антител. Поэтому их представительство в структуре В-клеток всегда превышает остальные субпопуляции.

На Рисунке 9бГ представлено разделение субпопуляции В1-клеток (CD19+CD43+) на В1а-клетки (CD19+CD43+CD5+) и В1б-клетки (CD19+CD43+CD5-). Полученные нами данные демонстрируют разделение В1а: В1б как 2:8, что немного противоречит литературным данным, так как ранее описывалось соотношение между В1а:В1б как 2:1 [24]. Такое распределение субпопуляций, полученное в нашем эксперименте можно объяснить тем, что существует достаточно мало исследований, посвящённых определению соотношения между субпопуляциями В1а и В1б. Так что соотношение 2:1 в пользу В1а нельзя считать строгим.

После разделения на субпопуляции клетки были высажены в планшеты на питательную среду и простимулированы CpG-олигодезоксинуклеотидом для улучшения продукции антител. В предварительных экспериментах нами показано, что клетки без стимуляции не синтезируют детектируемого количества антител и имеют худшую выживаемость. Супернатант клеток будет использован для проведения работ по изучению концентрации антител к ДНК и ДНК-гидролизующей активности IgG.

## а. Неокрашенный контроль



## б. Эксперимент

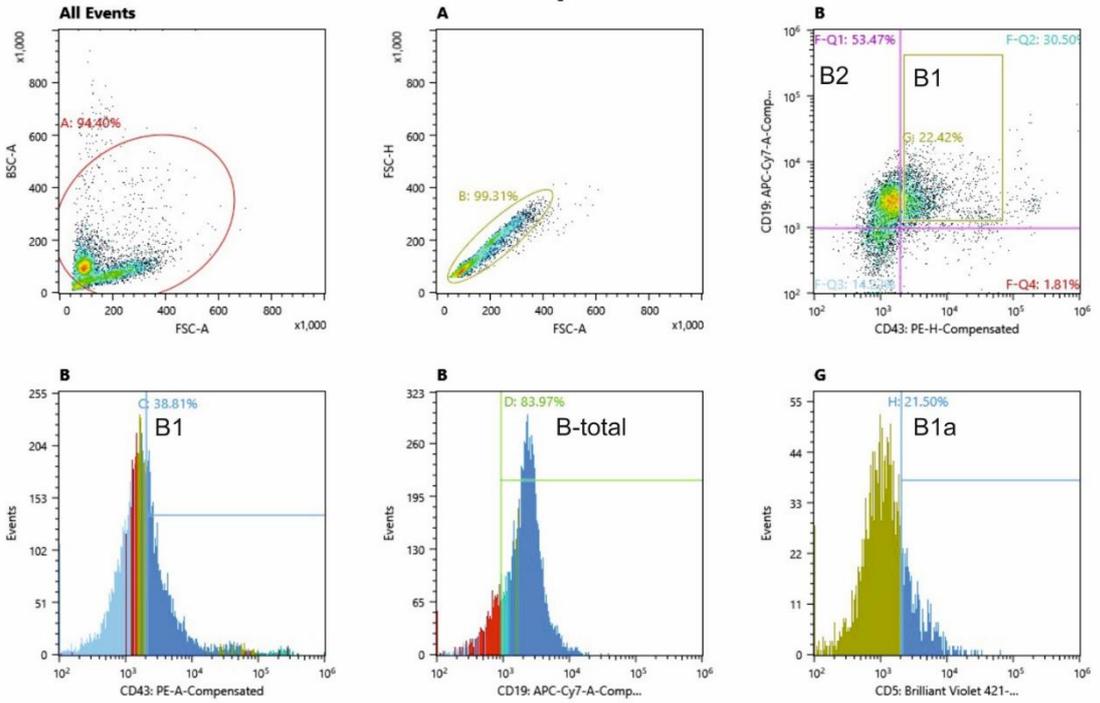


Рисунок 9. Разделение В-клеток на субпопуляции после проведения обогащения методом магнитной сепарации. B-total — все В-клетки.

### 3. Выводы

По результатам выполненной на данный момент работы можно сделать следующие выводы:

1. Показано увеличение ДНКазной и гистон-гидролизующих активностей IgG из плазмы крови пациентов с нейроиммунными патологиями по сравнению со здоровыми донорами. Для пациентов с СКВ, в отличие от других нейроиммунных патологий, показано разделение пациентов на две выраженные группы с низкими и высокими каталитическими активностями.
2. Для каталитической активности IgG из плазмы крови пациентов с нейроиммунными патологиями обнаружено крайне мало корреляционных взаимодействий с цитокинами. Это может объясняться относительной невовлечённостью каталитически активных антител в патологические процессы. ДНК-гидролизующая активность антител продемонстрировала прямую корреляцию с концентрацией антител к ДНК у пациентов с СКВ. Однако связи с выраженностью заболевания по шкале SELENA-SLEDAI не было, в отличие от титра антител к ДНК, который показал прямую корреляционную связь со шкалой SELENA-SLEDAI.
3. Характер изменения концентрации вкДНК с течением времени в плазме крови у мышей с пристан-индуцированной моделью СКВ оказался достаточно неожиданным, требующим дальнейших исследований и анализа. Установлена прямая статистически достоверная взаимосвязь между изменением массы тела индуцированных мышей и изменением концентрации вкДНК. Изменение уровня вкДНК очень сильно зависело от изменения массы тела, особенно от увеличения жировой ткани в абдоминальной области. Быстрое увеличение массы тела является причиной выделения большого количества вкДНК.

## 4. Список литературы

- <sup>1</sup> Кульберг А. Я., Дочева Ю. В., Тарханов И. А., Спивак В. А. О протеолитической активности в препаратах очищенного иммуноглобулина G и антител кролика // Биохимия. – 1969. – Т. 34. – №. 6. – С. 1178-1183.
- <sup>2</sup> Shuster, A. M., Gololobov, G. V., Kvashuk, O. A., Bogomolova, A. E., Smirnov, I. V., & Gabibov, A. G. (1992). DNA hydrolyzing autoantibodies. *Science*, 256(5057), 665-667.
- <sup>3</sup> Palma, J., Tokarz-Deptuła, B., Deptuła, J., & Deptuła, W. (2018). Natural antibodies—facts known and unknown. *Central European Journal of Immunology*, 43(4), 466-475.
- <sup>4</sup> Tolmacheva, A. S., Onvumere, M. K., Sedykh, S. E., Timofeeva, A. M., & Nevinsky, G. A. (2023). Catalase Activity of IgGs of Patients Infected with SARS-CoV-2. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 10081.
- <sup>5</sup> Urusov, A. E., Aulova, K. S., Dmitrenok, P. S., Buneva, V. N., & Nevinsky, G. A. (2023). EAE of Mice: Enzymatic Cross Site-Specific Hydrolysis of H2A Histone by IgGs against H2A, H1, H2B, H3, and H4 Histones and Myelin Basic Protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8636.
- <sup>6</sup> Urusov, A. E., Aulova, K. S., Dmitrenok, P. S., Buneva, V. N., & Nevinsky, G. A. (2023). EAE of Mice: Enzymatic Cross Site-Specific Hydrolysis of H2B Histone by IgGs against H1, H2A, H2B, H3, and H4 Histones and Myelin Basic Protein. *Molecules*, 28(7), 2973.
- <sup>7</sup> Wong, J. B., Hewitt, S. L., Heltemes-Harris, L. M., Mandal, M., Johnson, K., Rajewsky, K., ... & Skok, J. A. (2019). B-1a cells acquire their unique characteristics by bypassing the pre-BCR selection stage. *Nature communications*, 10(1), 4768.
- <sup>8</sup> Yang, D., Han, Z., & Oppenheim, J. J. (2017). Alarmins and immunity. *Immunological reviews*, 280(1), 41-56.
- <sup>9</sup> Duvvuri, B., & Lood, C. (2019). Cell-free DNA as a biomarker in autoimmune rheumatic diseases. *Frontiers in immunology*, 10, 502.
- <sup>10</sup> Richard, M. L., & Gilkeson, G. (2018). Mouse models of lupus: what they tell us and what they don't. *Lupus science & medicine*, 5(1), e000199.
- <sup>11</sup> Lekchnov, E. A., Dmitrenok, P. S., Ol'ga, D. Z., Sedykh, S. E., Buneva, V. N., & Nevinsky, G. A. (2018). The DNA-hydrolyzing activity of IgG antibodies from human placenta. *Placenta*, 68, 1-8.
- <sup>12</sup> Ermakov, E. A., Parshukova, D. A., Nevinsky, G. A., & Buneva, V. N. (2020). Natural catalytic IgGs hydrolyzing histones in schizophrenia: Are they the link between humoral immunity and inflammation?. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7238.
- <sup>13</sup> Melamud, M. M., Buneva, V. N., & Ermakov, E. A. (2023). Circulating cell-free DNA levels in psychiatric diseases: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3402.
- <sup>14</sup> Hendy, O. M., Motalib, T. A., El Shafie, M. A., Khalaf, F. A., Kotb, S. E., Khalil, A., & Ali, S. R. (2016). Circulating cell free DNA as a predictor of systemic lupus erythematosus severity and monitoring of therapy. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 17(1), 79-85.
- <sup>15</sup> Lowes, H., Pyle, A., Duddy, M., & Hudson, G. (2019). Cell-free mitochondrial DNA in progressive multiple sclerosis. *Mitochondrion*, 46, 307-312.
- <sup>16</sup> Stampanoni Bassi, M., Iezzi, E., Marfia, G. A., Simonelli, I., Musella, A., Mandolesi, G., ... & Buttari, F. (2018). Platelet-derived growth factor predicts prolonged relapse-free period in multiple sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*, 15, 1-9.
- <sup>17</sup> Rojas, M., Rodríguez, Y., Leon, K. J., Pacheco, Y., Acosta-Ampudia, Y., Monsalve, D. M., ... & Anaya, J. M. (2018). Cytokines and inflammatory mediators in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*, 11, 1-5.
- <sup>18</sup> Melamud, M. M., Ermakov, E. A., Boiko, A. S., Kamaeva, D. A., Sizikov, A. E., Ivanova, S. A., ... & Buneva, V. N. (2022). Multiplex analysis of serum cytokine profiles in systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13829.

- 
- <sup>19</sup> Correa, M. A., Borrego, A., Jensen, J. R., Cabrera, W. H., Barros, M., Katz, I. S., ... & De Franco, M. (2018). Mice Selected for Acute Inflammation Present Altered Immune Response during Pristane-Induced Arthritis Progression. *BioMed Research International*, 2018(1), 1267038.
- <sup>20</sup> Airlangga, D. I., Rahmawati, H. R., Susianti, H., & Handono, K. (2023). Exploring Systemic Lupus Erythematosus Pathogenesis through Animal Models: A Systematic Review of Humanized and Pristane-Induced Lupus Mice. *Journal of Biomedicine and Translational Research*, 9(3), 140-156.
- <sup>21</sup> Tug, S., Helmig, S., Menke, J., Zahn, D., Kubiak, T., Schwarting, A., & Simon, P. (2014). Correlation between cell free DNA levels and medical evaluation of disease progression in systemic lupus erythematosus patients. *Cellular immunology*, 292(1-2), 32-39.
- <sup>22</sup> Ørntoft, M. B. W., Jensen, S. Ø., Øgaard, N., Henriksen, T. V., Ferm, L., Christensen, I. J., ... & Andersen, C. L. (2021). Age-stratified reference intervals unlock the clinical potential of circulating cell-free DNA as a biomarker of poor outcome for healthy individuals and patients with colorectal cancer. *International journal of cancer*, 148(7), 1665-1675.
- <sup>23</sup> Baumgarth, N. (2011). The double life of a B-1 cell: self-reactivity selects for protective effector functions. *Nature Reviews Immunology*, 11(1), 34-46.
- <sup>24</sup> Cunningham, A. F., Flores-Langarica, A., Bobat, S., Dominguez Medina, C. C., Cook, C. N., Ross, E. A., ... & Henderson, I. R. (2014). B1b cells recognize protective antigens after natural infection and vaccination. *Frontiers in immunology*, 5, 535.



# Отчет о проверке

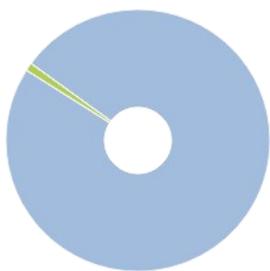
Автор: Меламуд Марк Маркович

Проверяющий: Мирошниченко Светлана Константиновна

Название документа: Меламуд М. М. Научный доклад\_wf

## РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ

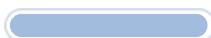
Тариф: FULL



Совпадения:  
0%



Оригинальность:  
98,75%



Цитирования:  
1,25%



Самоцитирования:  
0%



«Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирования», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует проверенному тексту документа.

- **Совпадения** — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.
- **Самоцитирования** — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.
- **Цитирования** — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.
- **Текстовое пересечение** — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
- **Источник** — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
- **Оригинальный текст** — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

## ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

Номер документа: 22

Тип документа: Не указано

Дата проверки: 10.09.2024 13:17:17

Дата корректировки: 10.09.2024 13:30:11

Количество страниц: 24

Символов в тексте: 50127

Слов в тексте: 6685

Число предложений: 690

Комментарий: не указано

## ПАРАМЕТРЫ ПРОВЕРКИ

Выполнена проверка с учетом редактирования: Да

Выполнено распознавание текста (OCR): Да

Выполнена проверка с учетом структуры: Нет

**Модули поиска:** Кольцо вузов (переводы и перефразирования), Перефразирования по коллекции IEEE, Медицина, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Сводная коллекция ЭБС, Публикации РГБ (переводы и перефразирования), Интернет Плюс\*, Переводные заимствования\*, Переводные заимствования (KuEn), Библиография, СМИ России и СНГ, Переводные заимствования по Интернету (KkRu), Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Переводные заимствования по Интернету (KuRu), Патенты СССР, РФ, СНГ, Перефразирования по Интернету (EN), Публикации РГБ, Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования), Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Шаблонные фразы, IEEE, Кольцо вузов, Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Переводные заимствования (KkEn), ИПС Адилет, Публикации eLIBRARY, Перефразирования по Интернету, Цитирование, Переводные заимствования по Интернету (EnRu), СПС ГАРАНТ: аналитика, Переводные заимствования (RuEn), СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Диссертации НББ, Коллекция НБУ, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Переводные заимствования IEEE

➔ **Модули, недоступные в рамках тарифа:** Интернет Free

## ИСТОЧНИКИ

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарий
[01]	4,56%	0%	<a href="https://www.openbio.ru/openbio...">https://www.openbio.ru/openbio...</a> <a href="https://openbio.ru">https://openbio.ru</a>	30 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[02]	2,25%	0%	Природные каталитически акти... <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	01 Янв 2015	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[03]	2,23%	0%	ДИПЛОМ_Новикова_TC	05 Июн 2023	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[04]	2,12%	0%	ДР_АуерманЕА_18.05.2022	18 Мая 2022	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[05]	1,81%	0%	<a href="https://www.tnmc.ru/upload/pub...">https://www.tnmc.ru/upload/pub...</a> <a href="https://tnmc.ru">https://tnmc.ru</a>	20 Фев 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[06]	1,79%	0%	%d0%a1%d0%b1%d0%be%d1%80... <a href="https://ras.ru">https://ras.ru</a>	29 Мар 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[07]	1,77%	0%	%D0%A1%D0%B1%D0%BE%D1%8... <a href="https://tnmc.ru">https://tnmc.ru</a>	28 Авг 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[08]	1,53%	0%	Никитин_АО_Диплом_на_АП	22 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[09]	1,46%	0%	Анализ гидролиза пептидов фун...	18 Апр 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[10]	1,28%	0%	Природные каталитические имм... <a href="https://vak.minobrnauki.gov.ru">https://vak.minobrnauki.gov.ru</a>	02 Апр 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[11]	1,26%	0%	РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ПРОФ... <a href="https://cyberleninka.ru">https://cyberleninka.ru</a>	21 Сен 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[12]	1,25%	1,25%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы	
[13]	1,24%	0%	Дипломная работа Мирослав_Ан...	11 Янв 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[14]	1,2%	0%	<a href="https://ssmj.ru/system/files/archiv...">https://ssmj.ru/system/files/archiv...</a> <a href="https://ssmj.ru">https://ssmj.ru</a>	19 Янв 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[15]	1,17%	0%	Ермаков, Евгений Александрови... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2020	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[16]	1,09%	0%	%D0%A1%D0%B1%D0%BE%D1%8... <a href="https://tnmc.ru">https://tnmc.ru</a>	28 Авг 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[17]	1,08%	0%	Токарева, Анастасия Григорьевн... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	раньше 2011	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[18]	1,04%	0%	<a href="https://svpin.org/files/journal/202...">https://svpin.org/files/journal/202...</a> <a href="https://svpin.org">https://svpin.org</a>	13 Янв 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.

[19]	1,02%	0%	<a href="https://openbio.ru/openbio_tezis...">https://openbio.ru/openbio_tezis...</a> <a href="https://openbio.ru">https://openbio.ru</a>	07 Апр 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[20]	1%	0%	Диплом2023_Шаяхметова	22 Мая 2023	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[21]	0,98%	0%	Харитоновна, Марина Александро...	20 Янв 2010	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[22]	0,96%	0%	<a href="https://www.tnimc.ru/upload/pub...">https://www.tnimc.ru/upload/pub...</a> <a href="https://tnimc.ru">https://tnimc.ru</a>	31 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[23]	0,94%	0%	Кихтенко, Николай Андреевич Э...	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[24]	0,94%	0%	СВЯЗЬ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ С К...	08 Июл 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[25]	0,93%	0%	<a href="http://www.vector.nsc.ru/userfiles...">http://www.vector.nsc.ru/userfiles...</a> <a href="http://vector.nsc.ru">http://vector.nsc.ru</a>	13 Июл 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[26]	0,93%	0%	<a href="http://www.vector.nsc.ru/userfiles...">http://www.vector.nsc.ru/userfiles...</a> <a href="http://vector.nsc.ru">http://vector.nsc.ru</a>	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[27]	0,92%	0%	<a href="https://conf.icgbio.ru/lymphology...">https://conf.icgbio.ru/lymphology...</a> <a href="https://conf.icgbio.ru">https://conf.icgbio.ru</a>	27 Фев 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[28]	0,89%	0%	RJI_21_2019_Novosibirsk.pdf	05 Июн 2021	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[29]	0,89%	0%	<a href="https://scirate.1spbgmu.ru/SciRat...">https://scirate.1spbgmu.ru/SciRat...</a> <a href="https://scirate.1spbgmu.ru">https://scirate.1spbgmu.ru</a>	23 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[30]	0,87%	0%	Архипова В.И. 16405с химик_дип...	26 Мая 2021	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[31]	0,8%	0%	КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТА...	19 Июл 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[32]	0,79%	0%	Системная красная волчанка: мо...	27 Дек 2016	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[33]	0,79%	0%	<a href="https://www.openbio.ru/openbio_...">https://www.openbio.ru/openbio_...</a> <a href="https://openbio.ru">https://openbio.ru</a>	30 Мая 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[34]	0,73%	0%	Приоритеты в области биомеди...	21 Мая 2016	Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[35]	0,72%	0%	<a href="httpwww.bio.msu.runewsview.ph...">httpwww.bio.msu.runewsview.ph...</a> <a href="http://istina.msu.ru">http://istina.msu.ru</a>	08 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[36]	0,69%	0%	ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ХР...	01 Янв 2022	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[37]	0,67%	0%	Прокопов, Дмитрий Юрьевич Эв...	01 Янв 2022	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[38]	0,65%	0%	ASSA	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[39]	0,64%	0%	Внеклеточная ДНК плазмы - пот...	30 Авг 2014	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[40]	0,64%	0%	КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИРКУЛИРУЮ...	21 Сен 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[41]	0,64%	0%	<a href="https://www.tnimc.ru/upload/diss...">https://www.tnimc.ru/upload/diss...</a> <a href="https://tnimc.ru">https://tnimc.ru</a>	20 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[42]	0,58%	0%	Заключение Диссертационного ...	02 Сен 2021	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,57%	0%	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотре...	28 Июн 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,57%	0%	ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНО...	01 Янв 2022	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[45]	0,56%	0%	<a href="https://vestnik.rsmu.press/files/is...">https://vestnik.rsmu.press/files/is...</a> <a href="https://vestnik.rsmu.press">https://vestnik.rsmu.press</a>	17 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,55%	0%	Доказана возможность передач...	27 Окт 2022	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,53%	0%	<a href="https://bioschool.pnpi.nrcki.ru/wp...">https://bioschool.pnpi.nrcki.ru/wp...</a> <a href="https://bioschool.pnpi.nrcki.ru">https://bioschool.pnpi.nrcki.ru</a>	04 Июн 2020	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[48]	0,5%	0%	Жесткова, Елизавета Михайловн...	19 Фев 2024	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[49]	0,49%	0%	Хранцкевич М.В. Дипломная раб...	25 Мая 2024	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[50]	0,49%	0%	Криптические виды обыкновенн...	01 Янв 2023	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[51]	0,49%	0%	Диагностика маточного бесплод... <a href="http://dep.nlb.by">http://dep.nlb.by</a>	01 Янв 2023	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,49%	0%	Молекулярно-клеточные механи... <a href="http://dep.nlb.by">http://dep.nlb.by</a>	01 Янв 2023	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[53]	0,49%	0%	Тикунов с соавт текст	13 Мая 2020	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,48%	0%	Объявления о защите и автореф... <a href="https://gabrigh.ru">https://gabrigh.ru</a>	13 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[55]	0,46%	0%	Толмачева, Анна Сергеевна Окс... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	28 Дек 2021	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[56]	0,44%	0%	ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ... <a href="https://cyberleninka.ru">https://cyberleninka.ru</a>	19 Авг 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,43%	0%	Кафедра физико-химической би... <a href="https://bio.asu.ru">https://bio.asu.ru</a>	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[58]	0,42%	0%	Саенко, Евгений Львович Факто... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	07 Мар 2013	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,42%	0%	Сведения об авторах. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	31 Авг 2011	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[60]	0,41%	0%	<a href="https://nmicrk.ru/upload/iblock/f4...">https://nmicrk.ru/upload/iblock/f4...</a> <a href="https://nmicrk.ru">https://nmicrk.ru</a>	02 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,4%	0%	Молекулярная биология. 2017. Т.... <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[62]	0,37%	0%	Меднова, Ирина Андреевна Кли... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2020	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[63]	0,36%	0%	Дисрегуляция цитокиновой сети...	26 Окт 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,36%	0%	ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ХР... <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	01 Янв 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,36%	0%	List of abstracts accepted for publ... <a href="https://bgrssb.icgbio.ru">https://bgrssb.icgbio.ru</a>	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,34%	0%	<a href="https://disk.icgbio.ru/s/ejG5gRfYG...">https://disk.icgbio.ru/s/ejG5gRfYG...</a> <a href="https://disk.icgbio.ru">https://disk.icgbio.ru</a>	28 Авг 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,32%	0%	Диплом-2021-Урусов (3)	25 Мая 2021	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,3%	0%	Барякин, Дмитрий Николаевич ... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	22 Авг 2019	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[69]	0,29%	0%	Возрастные изменения дренажн... <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	20 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,28%	0%	Contacts <a href="https://tnimc.ru">https://tnimc.ru</a>	18 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[71]	0,25%	0%	science-education.ru_file_58c63f9...	13 Мар 2017	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[72]	0,25%	0%	<a href="https://www.volgmed.ru/uploads/...">https://www.volgmed.ru/uploads/...</a> <a href="https://volgmed.ru">https://volgmed.ru</a>	02 Июл 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[73]	0,25%	0%	Demystifying Hypothyroidism Det... <a href="https://ieeexplore.ieee.org">https://ieeexplore.ieee.org</a>	03 Мар 2023	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[74]	0,25%	0%	Demystifying Hypothyroidism Det... <a href="https://ieeexplore.ieee.org">https://ieeexplore.ieee.org</a>	03 Мар 2023	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[75]	0,25%	0%	Integrated Network-Based Approa... <a href="https://ieeexplore.ieee.org">https://ieeexplore.ieee.org</a>	27 Дек 2019	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[76]	0,24%	0%	Всероссийская научно-практиче... <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[77]	0,24%	0%	Артериальная гипертония у лиц... <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0,24%	0%	Т. ХСIV, № 4, июль-август <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0,24%	0%	Вестник гематологии. Том IX. № ... <a href="http://bibliorossica.com">http://bibliorossica.com</a>	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0,24%	0%	Доклады Академии Наук. 2017. Т.... <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[81]	0,24%	0%	Международные стандарты леч... <a href="http://gorod54.ru">http://gorod54.ru</a>	28 Дек 2018	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0,22%	0%	Решение Советского районного ... <a href="http://arbitr.garant.ru">http://arbitr.garant.ru</a>	24 Сен 2016	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[83]	0,21%	0%	Дипломная работа Мирослав_Ан...	11 Янв 2024	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[84]	0,2%	0%	<a href="http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/...">http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/...</a> <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	20 Июн 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0,2%	0%	<a href="https://istina.msu.ru/media/publi...">https://istina.msu.ru/media/publi...</a> <a href="https://istina.msu.ru">https://istina.msu.ru</a>	04 Сен 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[86]	0,2%	0%	<a href="https://vestnik.rsmu.press/files/is...">https://vestnik.rsmu.press/files/is...</a> <a href="https://vestnik.rsmu.press">https://vestnik.rsmu.press</a>	17 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[87]	0,19%	0%	Биоорганическая химия. 2017. Т.... <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0,18%	0%	Биокомпозиаты на основе кальци... <a href="https://e.lanbook.com">https://e.lanbook.com</a>	22 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[89]	0,18%	0%	Frontiers   SOCS-JAK-STAT inhibit... <a href="https://translated.turbopages.org">https://translated.turbopages.org</a>	17 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[90]	0,17%	0%	<a href="https://neuronm.ru/images/docs/...">https://neuronm.ru/images/docs/...</a> <a href="https://neuronm.ru">https://neuronm.ru</a>	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[91]	0,17%	0%	<a href="https://www.tnimc.ru/upload/conf...">https://www.tnimc.ru/upload/conf...</a> <a href="https://tnimc.ru">https://tnimc.ru</a>	07 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[92]	0,16%	0%	Бойко, Анастасия Сергеевна Кли... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[93]	0,16%	0%	Диплом2023_Шаяхметова	22 Мая 2023	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[94]	0,16%	0%	<a href="https://developer.ssmu.ru/upload...">https://developer.ssmu.ru/upload...</a> <a href="https://developer.ssmu.ru">https://developer.ssmu.ru</a>	12 Фев 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[95]	0,16%	0%	<a href="http://www.physiology-cis.org/file...">http://www.physiology-cis.org/file...</a> <a href="http://physiology-cis.org">http://physiology-cis.org</a>	30 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[96]	0,16%	0%	<a href="https://biosystemsconf.unn.ru/wp...">https://biosystemsconf.unn.ru/wp...</a> <a href="https://biosystemsconf.unn.ru">https://biosystemsconf.unn.ru</a>	02 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[97]	0,15%	0%	<a href="https://dspace.spbu.ru/bitstream/...">https://dspace.spbu.ru/bitstream/...</a> <a href="https://dspace.spbu.ru">https://dspace.spbu.ru</a>	24 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[98]	0,15%	0%	Лекарственный мониторинг и то... <a href="https://medical-diss.com">https://medical-diss.com</a>	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[99]	0,14%	0%	<a href="http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/...">http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/...</a> <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	23 Янв 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[100]	0,14%	0%	Лучевые методы визуализации ... <a href="http://dep.nlb.by">http://dep.nlb.by</a>	04 Июл 2017	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[101]	0,13%	0%	Диссертация на тему «Регуляция... <a href="https://dissercat.com">https://dissercat.com</a>	12 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[102]	0,13%	0%	Экспериментальная психология ... <a href="http://studentlibrary.ru">http://studentlibrary.ru</a>	19 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[103]	0,12%	0%	ТЕПЛОВОЙ РАСЧЕТ ЭЛЕКТРОТЕР... <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	01 Янв 2012	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[104]	0,12%	0%	Особенности биохимического со... <a href="http://dep.nlb.by">http://dep.nlb.by</a>	20 Дек 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[105]	0,12%	0%	Лазеры на самоограниченных п... <a href="http://studentlibrary.ru">http://studentlibrary.ru</a>	27 Ноя 2017	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[106]	0,12%	0%	Тарабрина, Анна Александровна... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[107]	0,12%	0%	Pose planning for robotically assis... <a href="https://ieeexplore.ieee.org">https://ieeexplore.ieee.org</a>	18 Ноя 2010	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[108]	0,12%	0%	ISBN9785922110853.txt	26 Окт 2017	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[109]	0,12%	0%	Палеогеология Средней Азии ... <a href="http://diss.natlib.uz">http://diss.natlib.uz</a>	29 Авг 2014	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[110]	0,12%	0%	Палеогеология Средней Азии ... <a href="http://diss.natlib.uz">http://diss.natlib.uz</a>	29 Авг 2014	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И  
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Отчёт о проверке текста научно-квалификационной работы на  
объём заимствования

Меламуд Марк Маркович

«Цитокиновая регуляция образования каталитических антител при  
нейроиммунных патологиях»

Оригинальность работы составляет 98.75%, что соответствует требованиям  
порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на  
заседании Итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь АК – к.б.н. С.К. Мирошниченко