

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Калюжина Олега Витальевича
на диссертационную работу Косыревой Анны Михайловны
«Половые и возрастные различия морфофункциональных изменений иммунной
системы и воспалительного ответа при экспериментальной эндотоксинемии»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Половые гормоны обладают иммуномодулирующим действием, при этом эстрогены главным образом активируют иммунный ответ, а тестостерон преимущественно подавляет его. Это определяет половые различия в частоте возникновения и тяжести течения инфекционно-воспалительных заболеваний у мужчин и женщин репродуктивного возраста. Тяжелое течение инфекционных и воспалительных заболеваний сопровождается системным воспалительным ответом, который приводит к развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и полиорганной недостаточности. Однако представленные в литературе сведения о половых различиях тяжести течения системного воспалительного ответа противоречивы. Более того, крайне мало работ посвящено изучению половых и возрастных особенностей морфофункционального состояния иммунной системы у людей и животных в норме и при различных воспалительных заболеваниях. Вместе с тем учет таких характеристик больного, как возраст и пол, *a priori* должен быть неизменной составляющей персонализированного подхода к лечению заболеваний, ассоциированных с системным воспалительным ответом. Вышесказанное говорит о несомненной актуальности темы представленной на отзыв диссертации.

Повышение уровня липополисахарида (ЛПС) в системной циркуляции является ключевым триггером системного воспалительного ответа. При этом эндотоксинемия имеет большое патогенетическое значение не только при

заболеваниях, вызванных грамотрицательными бактериями. Рост концентрации ЛПС в крови и связанный с ним каскад воспалительных реакций описаны при разнообразных инфекционных процессах, травмах, ожогах. В этой связи выбор автором модели эндотоксинемии для изучения половых и возрастных морфофункциональных особенностей иммунной системы и воспалительного ответа представляется обоснованным и рациональным.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов,
рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Впервые установлено, что при системном воспалительном ответе, вызванном внутрибрюшинным введением ЛПС, во всех возрастных группах – новорожденных, препубертатных и половозрелых – у самцов крыс Вистар по сравнению с самками более выражены воспалительные изменения в органах-мишенях: печени и легких.

Автором показано, что на фоне низких концентраций половых гормонов у животных обоего пола в препубертатном периоде и в отдаленные сроки после хирургической кастрации развиваются более выраженные экссудативные воспалительные и альтеративные изменения в органах-мишенях, которые сочетаются с акцидентальной инволюцией тимуса и снижением *ex vivo* продукции цитокинов. Эти данные свидетельствуют о протективном действии физиологических концентраций половых гормонов при воспалительных заболеваниях.

На фоне применения низкой дозы ЛПС у половозрелых самцов крыс по сравнению с самками выявлены более выраженные изменения органов-мишеней, акцидентальная инволюция тимуса, эндотоксинемия и повышение продукции ИЛ-2, определяющего поляризацию иммунного ответа преимущественно по 1-му типу. Благодаря этим данным, становится очевидным, что оценку и трактовку изменений тех или иных морфофункциональных иммунологических показателей при воспалительных заболеваниях, а также их коррекцию необходимо проводить с учетом пола и возраста.

Получены новые данные о том, что у половозрелых крыс низкая доза ЛПС приводит к миграции Т-лимфоцитов из ПАЛМ-зоны и гиперплазии В-зоны, более выраженной у самок, что сочетается со снижением продукции иммунокомпетентными клетками селезенки *ex vivo* провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИФН- γ , ФНО- α , а также ИЛ-12 и ИЛ-2. У новорожденных крыс в отличие от половозрелых высокая доза ЛПС вызывает гиперплазию белой пульпы селезенки со снижением продукции *ex vivo* ФНО- α , ИФН- γ и ИЛ-2 у самок, а у самцов – с повышением ФНО- α и ИЛ-2.

Впервые выявлено, что наиболее выраженные морфологические изменения тимуса после введения ЛПС наблюдаются у препубертатных и половозрелых самцов и характеризуются акцидентальной инволюцией с инверсией коркового и мозгового вещества и увеличением содержания аннексин-положительных апоптотически гибнущих клеток.

Показано, что в препубертатный период, когда уровень половых гормонов у самцов и самок не различается, воспалительный ответ, индуцированный ЛПС, более выражен у самцов, что свидетельствует о важном значении в развитии воспалительных реакций кариотипа, определяющего отличающийся у самцов и самок уровень экспрессии генов иммунного ответа.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Цель и задачи диссертационной работы сформулированы четко и корректно. Использованные автором результаты морфологического исследования и их сопоставление с данными иммуноферментного, биохимического и цитофлуориметрического исследований позволили комплексно оценить морфологические и иммунологические изменения в ответ на введение ЛПС.

Применены современные и адекватные методы статистически и признанные специалистами компьютерные программы, позволившие провести полноценную математическую обработку полученных данных. В частности, для оценки значимости патоморфологических и иммунологических изменений

в разных возрастных группах у крыс обоего пола автором использован критерий информативности Кульбака, что позволило выявить патогенетически значимые сдвиги и прогностические критерии развития системного воспалительного ответа в группах животных разного возраста и пола. Экспериментальная работа выполнена на самцах и самках крыс Вистар трех возрастных групп: новорожденные, препубертатные и половозрелые. Всего было использовано 379 животных. Каждая экспериментальная группа состояла из достаточного количества животных и имела адекватные группы сравнения. Важно, что автор проводил изучение иммунологических особенностей у самок крыс с учетом фазы эстрального цикла, что помогло охарактеризовать и выявить различия реакций иммунной системы при системном воспалительном ответе, индуцированным ЛПС у самок в фазы проэструса и диэструса. Благодаря вышеперечисленному, полученные автором результаты, базирующиеся на большом массиве данных и количественном анализе, определили обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

При выполнении работы автором проведен глубокий и всесторонний анализ литературы по изучаемой проблеме. Проведено критическое сравнение собственных результатов исследования с данными литературы. Сформулированные автором выводы достоверны и не противоречат полученным результатам.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Основные положения диссертационной работы, посвященной изучению различий морфофункциональных изменений иммунной системы и воспалительного ответа при экспериментальной эндотоксинеми у животных разного пола и возраста, имеют фундаментальное значение. Проведенное диссертантом комплексное исследование проявлений системного воспалительного ответа, оцениваемых по патологическим изменениям в органах-мишенях и уровню эндотоксинемии, в совокупности с оценкой выраженности иммунного ответа у самок и самцов крыс разных возрастных

тимочитов. Все полученные результаты автором подвергались адекватной статистической обработке. Соискателем самостоятельно проанализирована отечественная и зарубежная литература в сопоставлении с собственными данными, сделаны корректные обобщения и заключения. Выводы соответствуют задачам и базируются на полученных результатах.

Рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Результаты, представленные автором в диссертационной работе, касающиеся половых и возрастных различиях морфофункциональных изменений иммунной системы и воспалительного ответа при экспериментальной эндотоксинемии, необходимо использовать в курсах лекций по гистологии, цитологии и клеточной биологии, а также иммунологии и патологической анатомии медицинских и биологических вузов.

Общая оценка диссертационной работы

Работа написана хорошим литературным языком. Иллюстративный материал представлен микрофотографиями, таблицами, графиками. Выводы диссертации корректны, лаконичны и в полном объеме отражают содержание работы. Достоверность выводов обеспечивается достаточным объемом материала, адекватностью и информативностью использованных методов исследования. Полученные результаты подвергнуты качественной статистической обработке. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

Результаты исследования с достаточной полнотой отражены в 26 печатных работах, в том числе 13 публикациях в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России. Материалы работы доложены и обсуждены на международных, всероссийских и региональных научных конференциях.

Принципиальных замечаний по представленной на отзыв работе нет.

Заключение

Диссертационная работа А.М.Косыревой «Половые и возрастные различия морфофункциональных изменений иммунной системы и воспалительного ответа при экспериментальной эндотоксинемии»,

групп в полной мере отражают общие закономерности развития системного воспалительного ответа у крыс в зависимости от периода постнатального онтогенеза и пола. Полученные данные следует использовать при проведении экспериментальных и клинических исследований по изучению реакций иммунной системы и воспалительного ответа, а также в процессе обучения студентов биологических и медицинских вузов.

На основании данных автора о том, что у кастрированных самцов и самок крыс ЛПС-индуцированный системный воспалительный ответ имеет более тяжелое течение, в группу риска неблагоприятного прогноза инфекционно-воспалительных заболеваний можно отнести людей с низким уровнем половых гормонов. Также автором установлено, что группой риска тяжелого течения и неблагоприятного прогноза инфекционно-воспалительных заболеваний является препубертатный период, в котором выявлены максимально выраженные воспалительные изменения в органах-мишенях – печени и легких, и снижение уровня продукции клетками селезенки ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α и ИФН- γ и числа Т-лимфоцитов в периферической крови.

Полученные данные о разной выраженности у самцов и самок альтеративных и иммунологических изменений в ответ на внутрибрюшинное введение ЛПС в низкой дозе доказывают необходимость персонифицированного подхода при разработке профилактических мероприятий и терапии инфекционно-воспалительных заболеваний с учетом пола.

Личный вклад автора не вызывает сомнения. Косырева А.М. самостоятельно планировала исследования, моделировала системный воспалительный ответ и проводила хирургическую кастрацию самок и самцов крыс, морфологическое и морфометрическое исследование гистологических препаратов тимуса, селезенки, печени и легких, иммуноферментный анализ гормонов и цитокинов, биохимический анализ ферментов печени, LAL-тест на определение уровня эндотоксина, цитофлуориметрическое исследование содержания основных субпопуляций лимфоцитов в крови, числа гибнущих

выполненная при консультации д.м.н., профессора О.В.Макаровой, является научно-квалификационным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области изучения половых и возрастных иммуноморфологических особенностей системного воспалительного ответа. Результаты диссертационной работы имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии и гистологии, иммунологии, патофизиологии, патологической анатомии и инфекционных болезней.

Таким образом, работа Косыревой А.М. соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в редакции Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 №650, от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), доктор медицинских наук (специальность 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология), профессор  Калюжин Олег Витальевич

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, +7 (499) 248-05-53.

Сайт: <https://www.sechenov.ru>

Электронная почта: rektorat@sechenov.ru, expedition@mma.ru

