

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук Карповой Маргариты Николаевны на диссертационную работу Алексеевой Ирины Владимировны «Физиологические показатели у крыс в динамике постстрессорного периода в условиях изменения иммунного статуса при действии липополисахарида», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность темы исследования

Стресс стал частью жизни современного человека и может способствовать развитию практически любого заболевания. В связи с этим актуальность изучения стрессорных воздействий на организм человека в настоящее время очевидна. Состояние стресса и связанные с ним нарушения физиологических функций являются одной из наиболее актуальных проблем медико-биологической науки. Кроме того, разработка новых подходов к коррекции психоэмоционального стресса, также имеет большое практическое значение. Изучением системных механизмов формирования эмоционального стресса и его влияния на организм многие десятилетия занимаются в НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина. Настоящее диссертационное исследование посвящено изучению влияния однократной длительной стрессорной нагрузки на динамику иммунных, поведенческих и метаболических показателей у крыс при действии липополисахарида. Известно, что эмоциональный стресс приводит к сбою в работе многих физиологических функций организма. Психоэмоциональный стресс у млекопитающих оказывает модулирующее влияние на болевую чувствительность. При этом воздействие острого стресса приводит к развитию анальгетического эффекта, а длительные или повторяющиеся стрессорные нагрузки способствуют повышению болевой чувствительности. Известно, что ответная реакция организма на эмоциогенные воздействия зависит, в том числе, от активности иммунной системы. Направленность изменений иммунных процессов во многом определяется силой стрессорного фактора: слабые или умеренные стрессоры стимулируют, а сильные и продолжительные – угнетают иммунологические процессы. Во многих исследованиях показана роль иммунологических механизмов в развитии болевых синдромов. Известно, что нейроиммунные взаимодействия участвуют в реализации как периферических, так и центральных механизмов ноцицепции. Многие негативные последствия стресса у млекопитающих,

связанные с нарушением реализации нормальных нейроиммунных взаимодействий, формируются после окончания воздействия на организм экстремальных факторов. В настоящее время одним из наиболее перспективных направлений медико-биологических исследований является поиск иммуноактивных веществ с целью предотвращения или снижения степени изменений физиологических показателей в разные периоды после стрессорного воздействия. Однако, несмотря на значительный интерес к изучению нейрогуморальных механизмов стресса, многие вопросы в этой области остаются нерешенными. Поэтому представленная работа, цель которой состояла в анализе динамики иммунных, поведенческих и метаболических показателей у крыс при введении липополисахарида после однократной длительной стрессорной нагрузки, является актуальной и современной.

Научная новизна исследования

В диссертационной работе И.В. Алексеевой получены новые оригинальные данные о влиянии иммунной модуляции посредством введения липополисахарида на физиологические показатели крыс в динамике наблюдений после острой стрессорной нагрузки.

Впервые выявлены особенности действия липополисахарида на состояние органов-маркеров стресса у животных в динамике после отрицательного эмоциогенного воздействия.

В диссертации И.В. Алексеевой убедительно показано, что иммунная модуляция при введении липополисахарида не влияет на особенности изменений ноцицептивной чувствительности в динамике постстрессорного периода.

Впервые на основе системного подхода получены приоритетные данные о характере влияния ЛПС на некоторые показатели цитокинового профиля крови на разных стадиях после 24-ч иммобилизационного стресса.

Впервые показано, что иммунная модуляция при внутрибрюшинном введении липополисахарида предупреждает стойкое повышение интенсивности метаболизма в отдаленный постстрессорный период.

Установлено, что иммунная модуляция липополисахаридом приводит к появлению корреляционных взаимосвязей между физиологическими и иммунологическими показателями у животных на самых ранних стадиях после 24-ч иммобилизации. Обнаружено, что антигенное воздействие предупреждает стойкое, чрезмерное напряжение физиологических функций на поздних стадиях после стрессовых нагрузок.

Новизна исследований не вызывает сомнений и отражена в выводах диссертации.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность полученных результатов подтверждается проведением физиологических исследований на репрезентативной выборке лабораторных животных, а также анализом данных с применением современных методов статистической обработки. Полученные результаты соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и практические рекомендации подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в таблицах и рисунках. Таким образом, высокая достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

По результатам диссертационной работы опубликовано 11 научных работ, из них – 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, а также 2 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Web of Science.

Практическая и теоретическая значимость работы

Теоретическое значение работы определяется расширением знаний об иммунных механизмах реализации стрессорного ответа у млекопитающих в динамике после отрицательного эмоциогенного воздействия. Представлены новые доказательства участия иммуноактивных соединений в системной организации физиологических функций и формировании адаптивных реакций при стрессорных нагрузках. Выявлены особенности взаимосвязей между иммунными и метаболическими показателями, параметрами болевой чувствительности и состоянием органов-маркеров стресса при введении липополисахарида после острой стрессорной нагрузки.

Практическая значимость работы определяется тем, что полученные данные могут найти применение при поиске новых соединений, обладающих иммуномодулирующими свойствами, для коррекции стресс-индуцированных нарушений физиологических функций. Материалы исследования целесообразно использовать в курсе преподавания нормальной физиологии, патологической физиологии, иммунологии и неврологии.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 164 страницах. Работа включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследований», «Результаты исследований», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список сокращений». «Список литературы». Список литературы содержит 329 источников, из них 87 отечественных и 242 зарубежных. Диссертация содержит 13 таблиц и 13 рисунков.

Общая характеристика работы

Во **введении** автор обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну и практическую значимость. Выдвинутые цель и задачи исследования, как и положения, выносимые на защиту, отражают суть проделанной работы. Приведен список апробаций и публикаций по теме диссертационной работы.

Теоретическая база рецензируемого исследования представлена в главе **«Обзор литературы»**, рассматривающей современные научные данные по физиологии стресса, включая стресс-реализующие и стресс-лимитирующие системы организма, а также сведения об иммунных процессах, участвующих в формировании стрессорных реакций. Автору удалось в доступной форме изложить имеющиеся представления о механизмах ноцицепции и компонентах системной болевой реакции. В специальных разделах обзора приведены современные данные об особенностях изменений болевой чувствительности при отрицательных эмоциогенных воздействиях, о роли цитокинов, как иммунных факторов, в регуляции ноцицепции. Проанализированы общие принципы действия изученного в работе иммуномодулятора липополисахарида, рассмотрено его участие в реализации нейроиммунных взаимодействий.

В целом эта глава представляет собой безупречно продуманный и насыщенный данными обзор литературы. Диссертантом проанализирован огромный объем современной информации. Результат этого труда изложен в самой доступной форме, написан грамотным научным языком, читается легко и с интересом, а представленный материал непосредственно связан с последующей экспериментальной работой диссертанта. Таким образом, обзор является серьезным обоснованием и предпосылкой для экспериментальной части диссертации и свидетельствует о высокой эрудированности диссертанта.

Описанию собственных результатов диссертационного исследования предшествует раздел **«Материалы и методы»**, в котором представлен логичный, подробный дизайн исследования с поэтапным выполнением работы. Применяющиеся методы исследования адекватны поставленным задачам. Использование автором поведенческих и метаболических тестов, а также методики определения уровня про- и противовоспалительных цитокинов с помощью твердофазного иммуноферментного анализа также следует отнести к несомненным достоинствам работы. Результаты исследования обработаны с помощью соответствующих, современных статистических и аналитических методов. В связи с несоответствием полученных значений нормальному (гауссовскому) распределению, для оценки статистической значимости различий между исследуемыми показателями у крыс автором применены непараметрические Т-критерий Вилкоксона и U-критерий Манна-Уитни.

В главе **«Результаты исследования»**, изложенной на 35 страницах, приведены данные большой экспериментальной работы, выполненной И.В. Алексеевой. Анализ полученных фактов показал, что иммунная модуляция путем системного введения липополисахарида предупреждает формирование ряда отрицательных последствий стрессорной нагрузки у крыс: изменения состояния органов-маркеров и интенсификацию метаболических процессов на поздних стадиях постстрессорного периода. Автором установлено, что антигенное воздействие после экспериментального стресса сопровождается специфическими изменениями показателей цитокинового профиля крови. В работе продемонстрированы некоторые особенности взаимосвязей между физиологическими и иммунными показателями у крыс при введении липополисахарида после острой стрессорной нагрузки. Полученные автором данные свидетельствуют о том, что иммунная модуляция посредством введения липополисахарида приводит к возникновению и упрочению связей между иммунными и физиологическими показателями на самых ранних стадиях постстрессорного периода. Важно, что такие взаимосвязи не выявлены в отдаленные сроки после воздействия.

Необходимо отметить логичность в последовательности предпринятых экспериментов, что в конечном итоге обеспечило достоверность достигнутых результатов и свидетельствует о высокой профессиональной подготовке автора. Экспериментальные данные прекрасно иллюстрированы рисунками и таблицами.

В четвертой главе **«Обсуждение»** диссертант проводит сравнительный анализ полученных им результатов с данными других авторов, опубликованных в отечественной и зарубежной литературе. Обсуждение

результатов других авторов подтверждает актуальность и новизну исследования автора диссертации. В заключение диссертант еще раз делает акцент на значение результатов проведенного исследования. Несомненное понимание автором перспективности и необходимости продолжения работы в этом направлении еще раз говорит о нем, как о вполне сформировавшемся исследователе.

Выводы аргументированы, соответствуют цели и задачам исследования, логически связаны с положениями, выносимыми на защиту.

Выводы, сформулированные диссертантом, отражают основное содержание работы, являются доказательными, свидетельствуют о решении поставленных в исследовании задач и достижении поставленной цели исследования.

Замечания по диссертации

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию нет. В качестве незначительного недостатка работы необходимо отметить то, что в главе «Обсуждение результатов» автор периодически повторяет изложение полученных результатов, а это, несомненно, несколько усложняет текст данного раздела.

В порядке дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Почему в Вашей работе с целью определения перцептуального компонента ноцицепции у крыс использован метод «tail-flick test», а не тест «горячая пластина»?

2. Какие практические рекомендации могут быть сделаны на основе полученных данных? Конкретнее: какие положения Вашей диссертации могут быть применены в практике?

Заключение

Диссертационная работа Алексеевой Ирины Владимировны на тему: «Физиологические показатели у крыс в динамике постстрессорного периода в условиях изменения иммунного статуса при действии липополисахарида», выполненная под руководством чл.-корр. РАН, д.м.н., профессора Перцова Сергея Сергеевича, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи по изучению особенностей взаимодействия иммунных, ноцицептивных и метаболических механизмов у крыс в процессах адаптации к стрессорным нагрузкам.

По методическому уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями от 01.10.2018г. № 1168, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Алексеева Ирина Владимировна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Карпова Маргарита Николаевна

Адрес: 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8

Тел.: 8(499) 151-17-56

ФГБУН «НИИ общей патологии и патофизиологии»

e-mail: karpovamn@gmail.com

специальность: патологическая физиология - 14.03.03

Подпись доктора биологических наук
Карповой М.Н.

заверяю директор ФГБНУ «НИИ
общей патологии и патофизиологии»
член-корр. РАН



Морозов С.Г.

Число 11 августа 2020г.