

**Отзыв официального оппонента
доктора медицинских наук И.Ж. Семинского**

на диссертационную работу Половинкиной Валерии Сергеевны «Закономерности формирования резистентности организма под действием искусственного антигенного комплекса на примере *Yersinia pestis* (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Одним из важных направлений государственной политики в области охраны здоровья населения является проведение эффективной вакцинопрофилактики, обеспечивающей предупреждение возникновения и распространения инфекционных заболеваний.

Несмотря на несомненные успехи, достигнутые в борьбе с возбудителем чумы, его значимость, как этиологического фактора в патологии человека, не только не снижается, но и имеет тенденцию к нарастанию. Вместе с тем, большинство аттенуированных живых вакцин непригодны для применения в условиях проведения экстренной профилактики антибиотиками.

Многолетний опыт использования вакцинации, как средства специфической профилактики чумы свидетельствует о сохранении ее весомой роли в системе противоэпидемических мероприятий, обусловленных наличием активных природных очагов чумы на территории Российской Федерации, неоднократным завозом из стран Юго-Восточной Азии этой инфекции, а также потенциальной возможности применения ее возбудителя в качестве агента биотерроризма.

Одним из перспективных направлений повышения резистентности организма к чуме является разработка химических вакцин на основе протективных антигенов *Yersinia pestis*. В связи с чем диссертационная работа В.С. Половинкиной, посвященная выявлению механизмов формирования резистентности организма животных к *Y. pestis* под действием искусственно созданных антигенных комплексов на основе клеточных оболочек (КО) и F1 чумного микроба в сочетании с адьювантами представляет несомненный интерес, а ее актуальность не вызывает сомнений.

Диссертационная работа изложена в классическом стиле на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов исследования, заключения, выводов и списка литературы,

иллюстрирована 10 таблицами и 11 рисунками. Список литературы содержит 298 наименований, в том числе 73 – отечественных и 215 – зарубежных. Объем выполненной диссертантом экспериментальной работы вполне соответствует цели и задачам исследования.

Во введении излагается актуальность данного исследования, степень разработанности темы, представлены цели и задачи работы, положения, выносимые на защиту. В «Обзоре литературы» анализируются современные представления о механизмах фагоцитоза *Y. pestis* и его роли в формировании резистентности макроорганизма, а также способы повышения иммуногенности и протективной активности бактериальных антигенов противочумных вакцин.

В главе «Материалы и методы» подробно представлены методы оценки иммуногенных свойств искусственных антигенных комплексов чумного микроба в сочетании с адьювантами на модели лабораторных животных, а также методы статистической обработки полученных данных.

В главе «Результаты собственных исследований и их обсуждение» подробно представлены полученные автором данные, свидетельствующие о том, что комплексный препарат на основе КО и F1-антиген *Y. pestis* обладает иммуногенной активностью для белых мышей.

Автором показано, что антигенный препарат F1+КО повышает показатели НСТ-теста, активность миелопероксидазы (МПО), НАДФ·Н-диафоразы и содержание неферментных катионных белков (НКБ), обеспечивая высокий уровень бактерицидной способности фагоцитов. Установлено, что адьюванты (тДНК и мурамилдипептид (МДП)) оказывают иммуномодулирующее действие, которое проявляется в регуляции активности ферментов кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма фагоцитов, повышении функциональной активности цитотоксических Т-лимфоцитов и их способность к разрушению инфицированных бактериями клеток, что ведет к элиминации возбудителя.

На основании полученных результатов и данных литературы автором предложена концептуальная схема закономерностей изменений функционального состояния клеток иммунной системы под действием антигенного препарата на основе F1-антигена и клеточных оболочек *Y. pestis* в сочетании с тДНК и МДП.

Заключение диссертационной работы содержит лаконичное и емкое обобщение результатов исследований.

Научная новизна исследования.

Приоритетными являются данные стимулирующего влияния препаратов КО+F1, КО+F1+ДНК и КО+F1+МДП на активность

кислородзависимого метаболизма лейкоцитов крови и перитонеальных макрофагов экспериментальных животных.

Установлено, что повышение содержания незрелых популяций Т-лимфоцитов ($CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD8^+$), а также наличие корреляционных связей этих клеток с активированными Т-лимфоцитами и моноцитами свидетельствуют об участии препаратов в формировании реакций адаптивного иммунитета.

Новыми являются сведения о стимулирующем действии комплексного препарата на основе F1-антигена и клеточных оболочек в сочетании с тДНК чумного микроба или МДП на активацию сигнальных путей синтеза провосполительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-12 (p40), IL-18, IL-12 (p70), TNF- α , IFN- γ), факторов, стимулирующих рост лимфоцитов (IL-2), пролиферацию и дифференцировку клеток (M-CSF, GM-CSF), переключение синтеза классов антител (IL-4, IL-5), а так же факторы роста (фактор роста тромбоцитов PDGF-BB, фактор роста эндотелия сосудов VEGF), монокин, индуцируемый IFN- γ - MIG, противовоспалительный цитокин IL-10.

Автором получены новые данные о способности комплексного препарата на основе F1-антигена и КО чумного микроба как *per se*, так и в сочетании с тДНК или МДП оказывать стимулирующее влияние на продукцию цитокинов и GM-CSF, а также пролиферацию предшественников тканевых макрофагов и гранулоцитов.

Показано, что комплексный препарат, включающий клеточные оболочки и F1-антиген *Y. pestis*, обладает протективной активностью для белых мышей, в том числе на фоне неспецифической профилактики доксициклином. МДП и тДНК возбудителя чумы повышают иммунологическую эффективность комплексного препарата, что указывает на перспективность использования этих иммуномодуляторов в качестве адъювантов при конструировании химических вакцин против чумы.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом выполненных исследований, проведенных с применением современных биологических, биохимических, иммунохимических и иммунологических методов, аргументированных анализом полученных результатов на сертифицированном оборудовании. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Полнота изложения основных результатов работы в научной печати.

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 6 – в

ведущих рецензируемых журналах и изданиях из перечня ВАК РФ рекомендованных для публикации основных материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а также, две – в иностранных журналах, монография и патент на изобретение.

Основные положения диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях различного уровня.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные в результате исследования данные расширяют фундаментальные представления о патогенетических механизмах *Y. pestis*.

Разработан новый способ получения иммуногенного препарата, заключающийся в подборе оптимальных условий обработки клеток чумного микроба и одномоментном получении F1-антигена и КО (патент на изобретение RUS 2248217 22.05.2003 «Способ получения иммуногенного препарата из *Yersinia pestis* EV»). Сконструирован искусственный антигенный комплекс на основе КО и F1 антигена *Y. pestis*.

Показана роль искусственных антигенных комплексов на основе КО и F1 антигена чумного микроба в сочетании с МДП и тДНК в реализации бактерицидных механизмов фагоцитоза (кислород-, нитроксидзависимых и кислороднезависимых) клеток иммунофагоцитарной системы.

Показана возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе клеточных оболочек и F1 антигена чумного микроба в сочетании с адьювантами для повышения резистентности организма экспериментальных животных в отношении *Y. pestis*.

Научные и практически значимые материалы диссертационных исследований включены в лекционные курсы дополнительного послевузовского образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Полученные данные тщательно проанализированы, что обеспечило объективность выдвинутых положений и выводов.

В автореферате изложены основные идеи и выводы диссертации, показана новизна и практическая значимость результатов исследований, приведен список публикаций, в которых отражены основные научные результаты диссертации. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы.

По существу изложенных в диссертации материалов принципиальных замечаний нет. Вместе с тем, в процессе ознакомления с диссертационным исследованием возникли замечание и вопрос:

1. Вряд ли научной новизной можно считать изменение показателей активации иммунного ответа в зависимости от сроков наблюдения.
2. Почему исследуемые препараты стимулировали продукцию и провоспалительных, и противовоспалительных цитокинов?

Заключение

Таким образом, по актуальности, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости диссертация Половинкиной Валерии Сергеевны «Закономерности формирования резистентности организма под действием искусственного антигенного комплекса на примере *Yersinia pestis* (экспериментальное исследование)», отвечает требованиям ВАК Министерства образования и науки РФ п.9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 29.09.2013 №842 (с изменениями от 21.04.2016г. №335 «О внесении изменений в «Положение о порядке присуждения ученых степеней»), в части требований, предъявляемых кандидатским диссертациям, а ее автор Половинкина Валерия Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология.

Заведующий кафедрой патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

Семинский Игорь Жанович _____



Подпись Семинского И.Ж. заверяю

Начальник отдела кадров Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

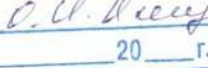
Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава РФ). 664003, СФО, Иркутская область г. Иркутск,



Подпись Семинского И.Ж. заверяю

Специалист по кадровой работе



« _____ » _____ 20 ____ г.



ул. Красного восстания, 1. Телефон: 8 (3952) 24-38-25. Факс: +7(3952)24-38-25; Сайт: <https://www.ismu.baikal.ru/>; E-mail: rektorat@ismu.baikal.ru