

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Бодиенковой Галины Михайловны на диссертационную работу Мухтургина Геннадия Борисовича «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.03 – Патологическая физиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Несмотря на достигнутые успехи в области профилактики, диагностики, лечения особо опасной природно-очаговой инфекционной болезни, возбудителем которой является *Yersinia pestis*, по-прежнему сохраняет свою актуальность проблема противодействия распространению чумы, профилактики заболевания, а также и всестороннего изучения механизмов резистентности патогенна. Это обусловлено многими причинами, в том числе, существованием в современный период активных природных очагов чумы на территории России, возможностью завоза инфекции с расширением транспортных связей и ростом миграции населения, угрозой применения возбудителя в террористических целях. В настоящее время наблюдается обострение эпидемической обстановки в Горно-Алтайском высокогорном пригородном очаге чумы, при этом заслуживают внимания факты регистрации эпидемических осложнений, связанных с заносом и укоренением в местных биоценозах нетипичных для этой территории штаммов основного подвида *Y. pestis subsp. pestis*, отличающегося от алтайского подвида плазмидным составом и вирулентностью. Известно, что зависимость между вирулентностью возбудителя и степенью выраженности индуцированной им иммунодепрессии, расценивается как важнейший фактор патогенности и является необходимым условием развития острого инфекционного процесса. Однако, участие центральных и периферических органов иммунной системы в реализации

иммунного ответа и особенностей течения болезни, вызванной возбудителем чумы с разным составом плазмид, требует дальнейшего изучения. Данное обстоятельство обосновывает необходимость сопоставления свойств штаммов, выделенных на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов и их изогенных вариантов, а также всестороннее изучение механизмов взаимодействия *Y. pestis* с разным плазмидным составом с клетками иммунной системы макроорганизма. В этой связи диссертационная работа Г.Б. Мухтургина, целью которой являлось выявление особенностей взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных со штаммами *Y. pestis* в зависимости от их плазмидного состава представляет несомненный интерес, а ее актуальность не вызывает сомнений. Задачи логично вытекают из поставленной цели, конкретны, последовательны.

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

Научная новизна исследования не вызывает сомнений и заключается в том, что автором получены новые сведения об антифагоцитарных и цитотоксических свойствах штаммов *Y. pestis*, изолированных в Тувинском и Горно-Алтайском природных очагах чумы, и их изогенных вариантов, которые проявляются разной способностью к разрушению перекиси водорода и адгезивной активностью. Установлено, что высокие показатели перекись разрушающей активности чумного микроба характерны для штаммов бактерий с наличием плазмиды рУР, а адгезивные свойства – рУV. Показано, что морфологические изменения в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных и дегрануляция тучных клеток при экспериментальной чумной инфекции зависят от плазмидного состава *Y. pestis*.

Заслуживают внимания новые данные о выявленных различиях степени активации фагоцитарного и бактерицидного потенциалов фагоцитов, обусловленных наличием рУР или рУV. Приоритетными являются сведения о том, что субпопуляционный состав клеток крови белых мышей при экспериментальной чумной инфекции ассоциирован с плазмидным профилем

чумного микроба. *Y. pestis* с полным набором плазмид оказывает существенное влияние на изменение популяционного состава клеток крови экспериментальных животных, блокирует ключевые барьерные механизмы системы врожденного иммунитета (поглотительную способность фагоцитов и их бактерицидный потенциал) и препятствует формированию макроорганизмом полноценного адаптивного иммунитета.

На основании выполненных исследований и данных литературы Г.Б. Мухтургиным предложена и научно обоснована концептуальная схема закономерностей изменения функционального состояния клеток иммунной системы под действием чумного микроба с разным набором плазмид.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные результаты позволяют дополнить существующие представления о механизмах реализации патогенного потенциала, обусловленного особенностями плазмидного состава штаммов *Y. pestis*. Автором обоснован ряд важнейших информативных морфологических параметров, характеризующих изменения в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных в динамике инфекционного процесса, вызванного штаммами *Y. pestis* с разным плазмидным спектром. Полученные результаты дополняют теоретические знания и определяют дальнейшее направление изысканий в области изучения процесса формирования резистентности макроорганизма к возбудителю чумы.

Практическая значимость работы подтверждена разработанными в соавторстве с сотрудниками лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора методами изучения бактерицидных механизмов фагоцитоза и иммунной перестройки организма, которые отражены в четырех методических рекомендациях и внедрены в практику научно-исследовательской работы ФКУЗ Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», ГОУ ДПО «Иркутская государственная академия

последипломного образования» Минздрава РФ. Научные и практически значимые результаты включены в лекционные курсы при подготовке кадров учреждений Роспотребнадзора и других ведомств по программам дополнительного профессионального образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

**Степень обоснованности и достоверность научных положений,
выводов, сформулированных в диссертации**

Результаты, представленные в работе, базируются на достаточном объеме исследований, научном анализе и применении широкого спектра современных и адекватных поставленным задачам методов исследования, выполненных в соответствии с утвержденными методическими указаниями, рекомендациями. Экспериментальные исследования выполнены на 690 животных: 180 морских свинок и 510 белых мышах с использованием штаммов *Y. pestis subsp. pestis* И-2638 и *Y. pestis subsp. pestis* И-3560 (pYP+pYV+pTP33+pYT+), его производных с отсутствием плазмид pYP и/или pYV (*Y. pestis subsp. pestis* И-3480 (pYP–pYV–pTP33+pYT+); *Y. pestis subsp. pestis* И-3479 (pYP+pYV–pTP33+pYT+), а также *Y. pestis subsp. altaica* И-2359 (pYP+pYV+pYT+), *Y. pestis subsp. altaica* И-2948 (pYP–pYV+pYT+) и селекционированным от него *Y. pestis subsp. altaica* И-2948/3 (pYP–pYV–pYT+). Статистическая обработка полученных результатов проведена в соответствии с международными правилами и стандартами. Положения, выносимые на защиту, обоснованы и сформулированы на основе системного подхода к решению поставленных задач. Выводы сформулированы на основе анализа фактического материала и логично вытекают из содержания работы.

Полнота изложения основных результатов работы в научной печати

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из которых 7 – в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК Минобрнауки России и 2 – в ведущих рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus. Опубликованные работы достаточно полно отражают все аспекты

выполненного исследования. Полученные результаты широко представлены на региональных, всероссийских, международных научно-практических конференциях, конгрессах, съездах.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

Структура диссертации, ее содержание и завершенность в целом

Диссертационная работа выполнена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11–2011, изложена традиционно, является целостным завершенным трудом и представляет собой рукопись, изложенную на 139 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов исследования, заключения, выводов и списка литературы. Иллюстрирована 7 таблицами и 20 рисунками. Список литературных источников содержит 230 наименований, в том числе 83 – зарубежных.

Во введении автор аргументировано, со ссылками на источники современной литературы, обосновывает актуальность исследования, степень разработанности темы, формулирует цель, три основные задачи и три положения, выносимые на защиту.

В «Обзоре литературы» представлены современные сведения об устойчивости возбудителя чумы к клеточным факторам врождённого иммунитета, факторах вирулентности *Y. pestis* связанных, с плазмидным составом, а также обосновывает необходимость сопоставления свойств штаммов, выделенных на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов их изогенных вариантов, изучение механизмов взаимодействия чумного микроба с разным плазмидным составом с клетками иммунной системы.

В разделе «Материалы и методы исследования» автор обосновывает методические приемы исследования. Для выполнения настоящей работы проведён значительный объём исследований. Экспериментальными моделями в опытах служили сертифицированные (НПО «Вектор» г. Новосибирск) морские

свинки и беспородные белые мыши. Подробно представлены штаммы чумного микроба, взятые для исследования, методы оценки функционального состояния клеток иммунной системы лабораторных животных при взаимодействии с *Y. pestis*, а также методы статистической обработки полученных данных.

В главе «Результаты собственных исследований и их обсуждение» подробно представлены, полученные автором данные, свидетельствующие о том, что штаммы *Y. pestis*, у которых отсутствует одна из плазмид (pYP или pYV), обладают в 4,3–8,5 раза сниженной адгезивной активностью и в среднем в 2,0 раза меньше ингибируют поглотительную способность фагоцитов лабораторных животных, чем штаммы с полным набором плазмид. Высокие показатели перекись разрушающей активности чумного микроба характерны для бактерий с наличием плазмиды pYP, а адгезивной активности – pYV. Установлено, что функциональная способность клеток иммунной системы в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* в отношении бактерий *Y. pestis*, у которых отсутствует одна из плазмид (pYP, pYV) выражена в большей степени, чем *Y. pestis* с полным набором плазмид, что характеризуется повышением показателей НСТ-теста, неферментных катионных белков и активности миелопероксидазы. В ходе исследований выявлено снижение общего содержания Т- и Т- лимфоцитов - хелперов (в среднем в 1,2 раза) в крови мышей, инфицированных *Y. pestis* с полным набором плазмид по сравнению со штаммами, у которых отсутствуют плазмиды (pYP, pYV). Функциональная активность Т-лимфоцитов и их субпопуляций в крови мышей, инфицированных *Y. pestis* с отсутствием одной из плазмид (pYP, pYV) повышается, достигает максимума к 7-м суткам эксперимента.

Автор аргументировано обосновывает, что морфологические изменения в иммунокомпетентных органах (лимфатические узлы, селезенка) характеризуются различной степенью активации иммунного ответа и выраженностью патологического процесса в зависимости от плазмидного состава *Y. pestis*. Увеличение площади Т- зависимых зон в иммунокомпетентных органах белых мышей, инфицированных *Y. pestis* с не

полным набором плазмид (pYP⁻, pYV⁻) свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета.

На основании полученных результатов и данных литературы автором предложена концептуальная схема закономерностей изменения функционального состояния клеток иммунной системы под действием чумного микроба с разным набором плазмид.

Заключение диссертационной работы содержит лаконичное обобщение результатов исследований. Объем выполненной диссертантом экспериментальной работы вполне соответствует цели и задачам исследования.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Диссертация Мухтургина Геннадия Борисовича выполнена в рамках плановой научно-исследовательской работы института в лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов, системном анализе полученных данных, обобщении и обсуждении полученных результатов в научных публикациях и докладах на конференциях различного уровня. В разделах диссертационной работы, выполненных совместно с сотрудниками лаборатории патофизиологии и лаборатории экспериментальных животных ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора вклад автора, является определяющим.

Соответствие работы паспорту специальности

Диссертация Г.Б. Мухтургина соответствует паспорту специальности 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки), а именно п. 2. «Изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний»; п. 9. «Изучение этиологии, патогенетических и саногенетических

механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики».

Таким образом, выполнена актуальная фундаментальная работа, имеющая научное и практическое значение. Принципиальных замечаний по работе нет. Наряду с общей положительной оценкой хотелось бы задать вопросы дискуссионного характера.

– Уточните наиболее информативные морфологические показатели, характеризующие изменения в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных при инфекционном процессе, вызванном штаммами *Y. pestis* с различным плазмидным составом?

– Каковы перспективы использования новых селекционных штаммов *Y. pestis* с отсутствием плазмид рУР и рУV в дальнейшей работе по созданию прототипов вакцинных препаратов.

Заключение

Диссертационная работа Г.Б. Мухтургина на тему «Закономерности взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных с *Yersinia pestis* разного плазмидного состава (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, является законченной научно-квалификационной работой в которой, на основании выполненных автором исследований, содержится решение актуальной научной задачи по выявлению особенностей взаимодействия клеток иммунной системы экспериментальных животных со штаммами *Y. pestis* в зависимости от их плазмидного состава. По своей актуальности, научной и практической значимости диссертационная работа Г.Б. Мухтургина соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842, в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335, с изменениями

Постановления Правительства РФ № 1024 от 28.08.2017, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,

доктор медицинских наук, профессор,

«10» 03 _____ 2020 г.



Бодиенкова Г.М.

Подпись д.м.н., профессора Бодиенковой Г.М. заверяю:

Начальник отдела кадров



Мандрик Е.А.

Сведения об официальном оппоненте:

Бодиенкова Галина Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». Адрес: 665827, Россия, Иркутская область, г. Ангарск, 12 «А» микрорайон, 3; телефон: +7 (3955) 58-69-10 (доб. 1411); <http://vsimeir.ru>, e-mail: immun11@yandex.ru;