

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Концевой Галины Викторовны

« Активация мукозального иммунитета легких неинфекционными стимулами »,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.01 – физиология

Актуальность. Диссертационная работа посвящена проблеме реагирования системы врожденного иммунитета в распознавании и элиминации патогенов. Выбранное соискателем направление – изучение реакций врожденного иммунитета слизистых дыхательных путей мышей самцов разных генотипов, индуцированных неинфекционными стимулами – является новым направлением в реакциях сигнальной адаптации, позволяющей минимизировать риск инфекций при ольфакторном поиске полового партнера. Исследования последних лет значительно продвинули не только понимание механизмов реагирования врожденного иммунитета, но и его взаимодействие с адаптивным иммунитетом, в котором Toll-like рецепторы участвуют не только как адаптеры для переключения от врожденного к адаптивному иммунитету в физиологических условиях, но и при формировании аутоиммунных расстройств, аллергий, хронических воспалительных заболеваний (S. Drexler et al., 2010). Эти обстоятельства позволяют говорить о том, что проведенное соискателем исследование обладает не только актуальностью, но и высокой научной новизной.

Первая глава работы носит обзорный характер. Концевая Г.В., используя публикации последних лет, анализирует данные, касающиеся разных аспектов иммунного реагирования слизистых в легких: механизмов врожденного иммунитета, роли генотипа при ответе на бактериальные стимулы, модуляции иммунных реакций социальными сигналами, наночастицами. Достаточно подробно рассматривается иммунный ответ на ЛПС, представленный каскадом иммуно-нейроэндокринных реакций, обеспечивающих неспецифическую иммунную защиту: участие провоспалительных цитокинов, хемокинов и медиаторов воспаления, что в конечном итоге формирует локальный и генерализованный воспалительный ответ, адекватный иммунный ответ. Показано, что помимо различной устойчивости к инфекциям мыши C57BL и BALB/c по разному отвечают на стимуляторы неспецифического иммунного ответа ЛПС, макрофаги этих мышей обладают различными функциональными свойствами. В отдельном разделе литобзора диссертант излагает литературные и данные лаборатории экологической генетики млекопитающих ИЦИГ СО РАН, в которой выполнена настоящая работа, о влиянии репродуктивных сигналов самок на механизмы иммунной защиты самцов. В

разделе, связанном с реакцией местного иммунитета легких на наночастицы, достаточно обоснованным выглядит их использование как неинфекционного стимула для мукозального иммунитета легких. Обзор литературы компактный, логичный, в целом написан хорошо, показывает достаточную эрудицию автора и хорошее знание изучаемой проблемы.

В главе «материалы и методы исследования» представлен дизайн исследования, подробно изложены протоколы опытов, данные об экспериментальных животных и условиях их содержания, методики исследования. Проведенные автором исследования выполнены на современном методическом уровне с использованием широкого спектра иммунологических, морфологических методов. Полученные результаты подвергнуты корректной статистической обработке с использованием дисперсионного анализа. Множественное сравнение средних проведено на основе критерия least significant differences (LSD). Для оценки достоверности различий между двумя средними использовался тест Стьюдента (нормальное распределение), Манна-Уитни (ненормальное распределение). Данные по содержанию ИЛ-1 β в гипоталамусе анализировался методом непараметрического двухфакторного анализа. Для интеграции данных, отражающих комплексное реагирование отдельных систем организма на введение препаратов, использовался метод главных компонент.

Результаты собственных исследований и их обсуждение представлены в 3-й и 4-й главе диссертации. Результаты собственных исследований начинаются с изложения результатов иммуно-эндокринной реакции, индуцированной интраназальной аппликацией мочи самок и ЛПС у мышей ICR. Прямое сравнение эффекта мобилизации лейкоцитов в верхние дыхательные пути под действием мочи самок и ЛПС свидетельствует об их сравнимом количественном эффекте, наступающем через 2 часа. Принципиальное отличие мочи самок от бактериального эндотоксина заключается в том, что также как и ЛПС она мобилизует миграцию лейкоцитов в легкие, но при этом подавляет механизмы неспецифической адаптивной реакции (низкий уровень ИЛ-1 β в гипоталамусе и кортистерона в крови). Был проведен анализ показателей, характеризующих физиологический ответ самцов на мочу самок и ЛПС, методом главных компонент (ГК), который выявил фенотипическую разнородность этого ответа. В выборке были выделены две главные компоненты, каждая из которых описывает около 30% общей изменчивости. В соответствии с показателями, вносящими основной вклад в ГК1, ее можно интерпретировать как ИЛ-1 β -зависимую мобилизацию лейкоцитов в легкие, сопровождаемую подавлением секреции андрогенов, тогда как ГК2 отражает ИЛ-1 β -независимую мобилизацию лейкоцитов, сопровождаемую низкими уровнями ИЛ-1 β в гипоталамусе и кортикостерона в плазме крови. Далее аналогичный дизайн исследования

был проведен на SPF самцах разных генотипов – C57BL и BALB/c. Показано, что в ответ на хемосигналы и ЛПС только у самцов BALB/c по сравнению с C57BL увеличивается количество лейкоцитов и концентрация белка в БАЛ. Как и у мышей ICR, у мышей BALB/c моча самок вызывает выраженную активацию местного иммунитета легких при меньшем развитии стресса по сравнению с ЛПС. При этом у самцов обеих линий наблюдается выраженное увеличение уровня кортикостерона в плазме крови при интраназальном введении ЛПС по сравнению с аппликацией мочи самок. Дистантная 24-часовая экспозиция запахом мочи самок или полового феромона самцов C57BL и BALB/c не сопровождается иммобилизацией лейкоцитов в легкие, увеличением концентрации белка в БАЛ по сравнению с интраназальной аппликацией, но при этом пероксидазная активность, показатель активности гранулоцитов, достоверно возростала у мышей BALB/c. Интраназальная аппликация суспензии только наночастиц Таркосила 25 и только у самцов BALB/c вызывает достоверное увеличение количества лейкоцитов в БАЛ. И феромоны, и наночастицы вызывают мобилизацию лейкоцитов в мукозальный слой легких только у самцов BALB/c. Многомерная статистика цитокинов, лейкоцитов, пероксидазной активности выявляет комплекс, который можно охарактеризовать, как индикатор провоспалительных механизмов в ответ на действие частиц у этих мышей. Это заключение диссертанта согласуется с литературными данными об использовании мышей линии BALB/c для моделирования различных воспалительных процессов, в том числе с аутоиммунным компонентом: гемолитической анемии, иммунокомплексного гломерулонефрита, антифосфолипидного синдрома, миокардита (Hardtke-Wolenski M. et al., 2013; Saforio A. et al., 2015; Orian J. et al., 2014). Достаточный фактический материал и его тщательный анализ, современные методы исследования и корректный статистический анализ убеждают в достоверности полученных данных и в правоммерности изложенных в диссертации положений и выводов.

В целом, диссертация производит очень хорошее впечатление – работа логически выстроена, данные корректно изложены и всесторонне обсуждаются, проведен тщательный анализ полученных данных, что убеждает в их достоверности.

Новизна полученных результатов и их научная ценность заключается в том, что впервые получены данные о влиянии генотипа на активацию мукозального иммунитета при индукции феромонами самок, наночастицами. Впервые показано, что хемосигналы самок, вызывающие быструю мобилизацию лейкоцитов в легкие самцов, могут являться новым примером сигнальной адаптации.

Практическая значимость. Данные о влиянии хемосигналов самок на иммуно-эндокринную функцию самцов могут быть использованы при регламентации норм

содержания лабораторных животных, используемых для иммунологических исследований, профилактики респираторных инфекций у сельскохозяйственных животных.

Основные результаты работы по теме диссертации опубликованы в 3 (отечественных) и 1(иностранной) научных работах в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Публикации и автореферат дают полное представление о содержании выполненного исследования. Выводы диссертации сформулированы корректно, лаконично, изложены четко и полностью вытекают из результатов исследования. Принципиальных замечаний к работе нет. В работе имеются стилистические погрешности.

Заключение. Диссертационная работа Концевой Галины Викторовны «Активация мукозального иммунитета легких неинфекционными стимулами», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических, является законченным, самостоятельно выполненным научно-квалификационным трудом, в которой содержится решение актуальной задачи – установлены особенности реагирования мукозального иммунитета легких самцов в зависимости от генотипа на индукцию неинфекционными стимулами - половыми хемосигналами и наночастицами. По актуальности избранной темы, новизне полученных результатов, обоснованности научных выводов и рекомендаций, объему проведенных исследований, их практической значимости работа Концевой Г.В. соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 20 сентября 2013г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

Зав. лабораторией экспериментальной иммунотерапии
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт фундаментальной и
клинической иммунологии»,

д-р мед. наук

630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14; тел. (383) 222-26-74, факс (383) 222-70-28; E-mail: niiki01@online.nsk.su

Подпись Колесниковой О.П. заверяю
ученый секретарь, канд. биол. наук

16 февраля 2015г.



 Колесникова О.П.

 Гаврилова Е.Д.