

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Гришиной Елены Анатольевны  
«ИММУНО – БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА КИШЕЧНЫХ  
НЕМАТОДОЗОВ»,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по  
специальности 03.02.11 – паразитология

Диссертационная работа Елены Анатольевны Гришиной посвящена изучению противопаразитарного иммунитета – одному из важных направлений в паразитологии. В связи с широкой распространенностью гельминтозов исследование противопаразитарного иммунитета представляется актуальным для современной биологии, а также медицины и ветеринарии и имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. В качестве объектов выбраны мыши, кролики и цыплята, экспериментально или спонтанно зараженные кишечными нематодами *Syphacia obvelata*, *Trichocephalus muris*, *Passalurus ambiguous*, *Ascaridia galli* и *Heterakis gallinarum*. Выбор объектов исследования, количество подопытных животных, постановка экспериментов, набор полученных показателей свидетельствуют о большом объеме проделанной работы. В настоящее время в ветеринарной и медицинской практике применяется огромное количество антигельминтных препаратов, многие из которых токсичны и оказывают отрицательное влияние на реакции клеточного и гуморального звена иммунитета. В диссертационной работе Е.А. Гришина достаточно успешно пытается найти и предложить правильный выбор терапевтической стратегии для снижения побочного действия химиотерапевтических средств.

Диссертационная работа представлена в 2 томах. Основной текст диссертации изложен в томе 1 и состоит из введения, трех разделов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка иллюстративного материала. Диссертация изложена на 278 страницах (том 1) основного текста (134 рисунка и 3 таблицы), и 166 страниц (том 2) приложения (86 рисунков, 80 таблиц и 6 актов внедрения). Список литературы содержит 439 источников, в том числе 103 зарубежных.

Введение традиционно посвящено актуальности и новизне исследования, в нем обозначены цели и задачи, а также изложены сведения о теоретической и практической значимости и апробации работы, сформулированы положения, выносимые на защиту. В связи с целью исследования автором поставлено семь задач.

В диссертации автор выносит на защиту пять положений, которые в дальнейшем подтверждаются выводами.

Уже во введении Е.А. Гришина описывает патогенное воздействие гельминтов на организм животных, справедливо указывая, что оно многогранно и включает не только механическое и токсическое, но и иммунопатологическое влияние. Однако за пределами внимания остается спорный, но достаточно большой объем, накопленной к настоящему времени литературы, посвященной благоприятному воздействию гельминтозов на здоровье человека. Например, на мышах и человеке продемонстрировано, что инфекции желудочно-кишечными гельминтами могут защищать от воспалительных заболеваний кишечника, вызывая в нем изменения баланса комменсальных и патогенных бактерий (Ramanan D., Bowcutt R., Lee S.C. et al. Helminth infection promotes colonization resistance via type 2 immunity // Science. 2016. 352, 608–612).

Во введении и обзоре литературы автор нередко ставит фразы в кавычки (например, стр. 9, 27), за которыми следует большое число ссылок, или приводит цитаты без ссылки (стр. 26, 28, 43, 45). Возникает вопрос, из какого именно источника взяты цитаты, может быть, кавычки вообще не стоило ставить?

Введение кажется слишком громоздким, например, в нем неоправданно много места отведено методам исследования, которые потом подробно описываются в Главе 2.1 «Материалы и методы исследования».

Представляется излишней фраза на стр. 20: «Таким образом, все положения, выводы и рекомендации научно обоснованы достоверными результатами исследования, а использованные методы соответствуют поставленным задачам». Практически полностью эта мысль повторяется на стр. 70: «Все научные положения, выводы и рекомендации обоснованы достоверными результатами исследования и сформулированы в диссертации. Все данные статистического анализа обобщены в виде научных положений, выводов, практических рекомендаций. Все использованные методы соответствуют поставленным задачам». Эти фразы можно было бы оставить для оппонентов.

РАЗДЕЛ 1. Обзор литературы разделен на 4 главы, в которых автор анализирует публикации, посвященные особенностям иммунитета при гельминтозах, роли иммунопатологии в патогенезе гельминтозов, молекулярным и цитологическим механизмам иммунитета при гельминтозах, состоянию современной антигельминтной терапии и перспективам её совершенствования. Хочется отметить Главу 1.4. «Состояние современной антигельминтной терапии и перспективы её совершенствования», в которой представлены интересные и актуальные сведения не только для специалистов, но и для более широкого круга читателей. Выбранный автором способ цитирования литературы (приведение номера источника из общего списка) кажется не очень удачным, но, видимо, объясняется попыткой сократить объем диссертации.

РАЗДЕЛ 2. Озаглавлен как «Собственные исследования» и содержит 6 глав, в первой из которых описываются материалы и методы исследования. Работа основана на большом объеме материала с использованием лабораторных животных (мышей, кроликов, цыплят), которые были экспериментально или спонтанно заражены нематодами из 3-х подотрядов Oxiurata, Trichocephalata и Ascaridata. Исследованы животные в острой и хронической фазе болезни аскаридозом, гетеракидозом, сифациозом, трихоцефалезом, пассалурозом. Сведения, касающиеся количества исследованных животных и вариантов экспериментов, описанные на стр. 61–65, выглядели бы более наглядно, если бы были представлены в таблице. Из пунктов 4–7 этой главы непонятно, всего исследовано по 250 экз. мышей или в каждом варианте опыта их было 250. Это же замечание относится к числу исследованных кроликов и цыплят. Не вызывает сомнения тот факт, что было исследовано достаточное количество экспериментальных животных, но хотелось бы видеть этому документальное подтверждение.

Следующие 5 глав Раздела 2 посвящены непосредственно результатам исследования и подразделяются на подглавы, названия которых не отражены в основном оглавлении диссертации, но весьма уместны. Полученные Е.А. Гришиной результаты хорошо проиллюстрированы, как в томе 1, так и в томе 2. Во многих случаях иллюстрационный материал тома 2 более показателен, чем аналогичный, приведенный в томе 1. Однако к представлению иллюстрационного материала есть ряд замечаний. Так, на всех рисунках приведены числовые значения для каждой точки, но не приведены ошибки, что было бы значительно показательней для восприятия данных. Значения ошибок и достоверности приведены в таблицах приложения, которые повторяют данные рисунков тома 1. Т.е. в приложение вынесены рабочие таблицы, чего можно было и не делать, а вместо этого просто привести ошибки на графиках. Кроме того, первая точка на большинстве графиков – данные контрольной группы животных, остальные – изменения показателей за время эксперимента у опытной группы. В этих случаях соединять первую точку с последующим графиком некорректно. На рисунках и в таблицах при описании острых и хронических опытов приведены данные контрольной группы животных (незараженные), в тексте указано, что различия достоверны по сравнению с контролем и началом эксперимента. Где данные по началу эксперимента? Или началом эксперимента считается первая точка (1-е – 3-и сутки в зависимости от конкретного опыта)? Опять же показатели у незараженной группы животных определяли только перед началом опыта или проводили их мониторинг в течение всего эксперимента, а данные не приведены в силу неизменности этих показателей в течение всего эксперимента? На рис. 19 и последующих отсутствуют значения для контрольной группы, в то время как интересно именно

сравнение полученных данных с аналогичными показателями у здоровых животных. На стр. 99 явно ссылка не на те рисунок и таблицу. Все показатели с ошибками приведены в Томе 2, в Томе 1 по тексту где-то приведены данные с ошибками, где-то – без них.

Весьма интересны главы 2.4 и 2.5, посвященные изучению изменений в патогенезе острой и хронической фазы гельминтозов при этиотропной моно- и комбинированной терапии. Стоит отметить, что для этих глав данные в таблицах 37-54 из приложения гораздо интересней и показательней приведенных в них рисунков 37-40, поскольку в таблицах присутствуют значения для контрольной группы животных, которым давали исследуемые препараты. Данные о влиянии лечебных препаратов на здоровых животных, свидетельствующие о токсичности используемых препаратов, представляются чрезвычайно важными и актуальными. Автор убедительно доказывает, что используемые для терапии антигельминтные препараты в той или иной степени способствуют усилению иммунопатологических процессов, сопровождающих хроническую фазу гельминтозов. При этом характерные для острой и хронической фазы гельминтозов различные нарушения процессов жизнедеятельности можно корректировать и восстанавливать до физиологических норм проведением у животных дегельминтизации на фоне иммуностимуляции и антиоксидантной терапии. Кроме того, после знакомства с результатами диссертации не остается сомнений, что только сочетанная терапия антигельминтными препаратами с гамавитом и ронколейкином может нейтрализовать негативное воздействие инвазии и токсичности антигельминтных препаратов. Это представляется наиболее актуальным выводом из диссертационной работы.

В качестве замечания следует отметить, что на стр. 139 приводятся числовые данные, которые затем повторяются в табл. 2 основного текста диссертации и табл. 52 Приложения. Также полностью совпадают табл. 3 основного текста и табл. 70 приложения.

Глава 2.6 посвящена исследованию микроморфологических признаков иммунопатологии при гельминтозах и их лечению. Глава проиллюстрирована большим числом микрофотографий тонкого кишечника, печени, легких, сердца, селезенки и почек мышей и кроликов при различных гельминтозах. В подписях к микрофотографиям Е.А. Гришина отмечает изменения, связанные, по ее мнению, с заболеваниями этих животных. Однако, отсутствие фотографий органов здоровых животных, а также отсутствие обозначений на имеющихся фотографиях, не позволяет в полной мере согласиться с автором. Часть описанных изменений может быть связана с условиями фиксации, что трудно опровергать в отсутствии фотографий органов здоровых животных. Высказанные сомнения связаны также с тем фактом, что на фотографиях нет следов

локализации нематод, вызывающих исследованные заболевания. С чем связана уверенность, что указанные изменения вызваны гельминтами, а не какими-то другими факторами? Возможно, автор имеет снимки органов контрольных животных и просто не приводит их в диссертации? От скольких животных взяты образцы органов для микроскопических исследований? Может быть, для микроскопического исследования просто попало ослабленное и болезненное животное? В тоже время, несмотря на отсутствие фотографий здоровых животных, не вызывают сомнения отмеченные автором изменения в тонком кишечнике – месте локализации нематод.

В подглаве 2.6.3 «Микро–морфологические признаки иммунопатологии при лечении гельминтозов», наконец, появляется фраза о контрольных животных, что позволило Е.А. Гришиной разграничить те морфологические изменения в структуре органов, которые вызвали непосредственно терапевтические мероприятия, и те структурные изменения, которые были обусловлены развитием гельминтозов. Однако микрофотографий для сравнения опять не приведено.

Раздел 3 включает обсуждение результатов, заключение и выводы, а также практические рекомендации. В обсуждении результатов автор привлекает использованный регрессионный анализ для установления связи между различными исследованными показателями. Это позволило подтвердить правильность установленных механизмов иммуно- и патогенеза гельминтозов и обосновать преимущества их комплексного лечения по сравнению с этиотропной монотерапией, а также разработать практические рекомендации по обязательному использованию в лечении гельминтозов компонентов, корректирующих состояние оксидантной и иммунной систем. Эта часть диссертации иллюстрирована большим числом рисунков, содержащихся в Приложении. Однако, многие рисунки в приложении (начиная со 135 по 220) избыточны, поскольку демонстрируют влияние 10 показателей друг на друга. Например, на рис. 135 показан график модели линейной регрессии влияния показателя АОПР (продуктов окисления белков) на ОхуStat (суммарный уровень пероксидов липидов), а на рис. 145 – ОхуStat на АОПР.

В целом же сделанные на основе полученного автором обширного материала заключение, выводы и практические рекомендации Е.А. Гришиной не вызывают сомнений. Текст диссертации тщательно выверен и практически не содержит опечаток, что достаточно редкое явление для работ такого уровня. Удивило только написание термина «антиоксидантная защита или система», который автор пишет то слитно, то через дефис.

Полученные Е.А. Гришиной данные вносят существенный вклад в методологию

создания новых композиционных лекарственных форм для борьбы с гельминтозами, с учетом соотношения компонентов, обеспечивающих повышение их эффективности и способствующих ускорению реабилитации организма животных и человека.

В целом, содержание автореферата отражает содержание диссертации. По материалам диссертации опубликовано 16 статей в рецензируемых журналах из списка ВАК и 3 монографии. Кроме того, как видно из списка работ Е.А. Гришиной, результаты ее исследований были многократно доложены на различных научных конференциях.

В заключение хочется отметить, что все высказанные в отзыве замечания носят дискуссионный характер и касаются структурной организации работы и редакционных моментов, не связанных с ее основным смыслом. В целом, диссертационная работа «Иммуно – биологические основы патогенеза кишечных нематодозов» представляет собой законченное исследование, соответствующее пп. 9–14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а его автор Гришина Елена Анатольевна заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

Официальный оппонент

Галина Игоревна Извекова

доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экологической паразитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук

Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок

8(48547)24-533

[izvekova@ibiw.ru](mailto:izvekova@ibiw.ru)

Подпись Г.И. Извековой заверяю

Зам. директора ИБВВ РАН

Д.б.н.

20.09. 2019 г.



Комов В.Т.