

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 исследованию роли отдельных молекулярных, цитологических и гистологических факторов в развитии иммунопатологических процессов в организме животных при заражении нематодами, а также поиску новых способов антигельминтной терапии. Диссертация изложена на 444 страницах, из которых основной текст – 278 стр. и приложение – 166 страниц, включает 220 рисунков и 83 таблицы, список литературы содержит 439 источников, в том числе – 106 иностранных. Диссертация состоит из введения, 3 разделов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Раздел 1 «Обзор литературы» включает 4 главы, раздел 2 «Собственные исследования» включает главу «Материалы и методы» и 5 глав, посвященных собственным исследованиям.

В качестве основных объектов исследования соискателем были выбраны лабораторные животные (мыши, кролики, цыплята), которые были экспериментально или спонтанно заражены нематодами из 3-х подотрядов Oxiurata, Trichocephalata, Ascaridata. Кроме того, экспериментальные животные получали лечение антигельминтными препаратами в сочетании с антиоксидантными и иммуномодулирующими препаратами. Работа выполнена на достаточно большом объеме экспериментального материала с использованием паразитологических, терапевтических, биохимических, гистологических и статистических методов.

В разделе 1 – «Обзор литературы» – с эволюционной точки зрения обосновывается слабая напряженность, эффективность, низкая специфичность иммунитета при гельминтозах, обусловленная защитными механизмами паразитов против иммунитета хозяина. Описываются иммунопатологические процессы при гельминтозах. Приводится информация о механизмах развития патологий иммунной системы при гельминтозах на клеточном и молекулярном уровнях. Дана классификация и принцип действия антигельминтных препаратов. Из анализа литературных данных следует, что молекулярные и цитологические механизмы патологий иммунной системы при паразитозах недостаточно изучены; недостаточно разработана комплексная терапия паразитозов с использованием иммуномодуляторов и антиоксидантов.

Глава 2.1. Материалы и методы исследования. В главе описаны материалы и методы исследования. Для решения поставленных задач был использован большой арсенал методов: экспериментального заражения и терапии животных, иммунологические, цитологические и гистологические, световой микроскопии, твердофазного иммуоферментного анализа.

Главы 2.2 – 2.6 посвящены собственным исследованиям автора. В главах 2.2.-2.5 описывается динамика изменений уровней продуктов окисления белков и липидов, а также цитокинов; морфологических и молекулярных маркеров апоптоза в организме хозяев в при гельминтозах. Глава 2.2 посвящена исследованиям острой фазы гельминтозов; глава 2.3 – изучению хронической фазы гельминтозов; глава 2.4. – описанию острой фазы гельминтозов при этиотропной моно- и комбинированной терапии; глава 2.5 – исследованию хронической фазы гельминтозов при этиотропной моно- и комбинированной терапии. Глава 2.6 посвящена исследованию патологических изменений тонкого кишечника, печени, почек, сердца, легких, селезенки и тимуса на микроморфологическом уровне при острой и хронической фазах гельминтозов и лечении антигельминтными препаратами. Проведен статистический анализ взаимосвязей между отдельными биохимическими показателями. В результате, диссертантом были раскрыты отдельные молекулярные, клеточные, тканевые механизмы развития иммунопатологических процессов в организме хозяев - млекопитающих при гельминтозах. Показана важная роль окислительного стресса, запрограммированной гибели иммунокомпетентных клеток в развитии иммунопатологии при гельминтозах. Проведен комплексный анализ динамики различных биохимических, цитологических и гистологических показателей. Доказана эффективность сочетания антигельминтной терапии с применением антиоксидантных и иммуномодулирующих препаратов. В Разделе 3 приводится обсуждение собственных результатов, заключение и выводы.

По диссертационной работе имеется ряд вопросов и замечаний :

1) Цель исследования состоит в установлении роли «малоизученных молекулярных и цитологических факторов...». На мой взгляд, использование термина «малоизученных» именно в цели исследования неубедительно, поскольку низкая изученность еще не является достаточным подтверждением важности исследования.

2) При знакомстве с главой «Обзор литературы» вызывает некоторое недоумение цитирование публикаций диссертанта, в которых излагаются результаты собственных исследований по диссертационной работе, при обзоре мировой литературы. Всего в разделе 1 насчитывается 21 самоцитирование. Анализ литературных данных обычно используют для того, чтобы показать современное состояние в определенной

научной области и обосновать необходимость собственных исследований. И только после этого переходят к описанию собственных исследований.

3) При знакомстве с главой «Материалы и методы исследования» возник вопрос методического характера. В иммунологических исследованиях для идентификации популяций лимфоцитов уже не одно десятилетие используется метод проточной цитофлуориметрии. С чем связано в настоящем исследовании использование методов E - РОК и EAC - РОК розеткообразования для дифференцировки T- и B-лимфоцитов.

4) При анализе главы, посвященной гистопатологическим изменениям внутренних органов, возникает вопрос. В диссертации приведены микрофотографии гистологических срезов только от особей, зараженных гельминтами, а также зараженных гельминтами и подвергшихся воздействию лекарственных препаратов, но отсутствуют соответствующие микрофотографии от контрольных (не подвергшихся заражению гельминтами и воздействию лекарственных средств). В связи с этим, отсутствует возможность провести объективную оценку гистопатологических изменений, происходящих при развитии гельминтозов.

5) В диссертации не раз отмечается важность изменения при гельминтозах иммунологического ответа с Th1- на Th2-зависимый. Однако в качестве биохимических маркеров при исследовании гельминтозов диссертант выбрал только те показатели, которые характеризуют Th2-зависимый иммунологический ответ.

6) Тематика диссертации имеет большую теоретическую и практическую значимость, как на российском, так и международном уровне. Хотя диссертация и выполнялась в течение длительного периода, в списке публикаций по результатам исследований отсутствуют статьи в международных журналах.

7) В ряде случаев использованы расплывчатые формулировки или неудачные выражения. Например: «Идея базируется на глубоком анализе динамических изменений всех изучаемых показателей, их математической обработке и состоит в определении достоверно значимых корреляционных связей между ними и установлении их роли в запуске и формировании возможных механизмов иммунопатологических процессов при кишечных гельминтозах в острой и хронической стадиях».

8) Неверные ссылки на литературные источники. «Изучение белков цестоды *Diphyllobothrium latum* и тканей рыб - промежуточных хозяев паразита, выявило выработку у паразита белков, идентичных по антигенной активности, как белкам промежуточного хозяина (рыбы) [250], так и белкам окончательного хозяина (человека) [263]». Публикация под № 250 посвящена исследованию описторхоза.

9) Видовые названия на латинском языке следует писать курсивом.

10) В некоторых местах диссертации встречается небрежное оформление:

а) Таблицы разбиты между страницами.

б) Местами отсутствуют пробелы между словами.

в) Отсутствует единообразие в оформлении нумерации. Непонятно, почему нумерация рисунков сквозная через весь текст диссертации, а у таблиц нумерация в приложении вновь начинается с № 1

Прежде чем оценивать диссертационную работу Е.А. Гришиной в целом, следует отметить, что взаимоотношения между паразитом и хозяином являются одной из центральных проблем паразитологии. При проникновении паразитов в организм хозяина-животного, они сталкиваются с рядом барьеров и защитных реакций, среди которых важную роль играет ответ иммунной системы хозяев, особенно у теплокровных животных. Эволюционно у паразитов вырабатываются механизмы по уклонению (evasion, эвазия) от воздействия иммунной системы или по изменению иммунологических реакций хозяина. Поэтому изменения параметров иммунологического ответа при паразитозах являются сложным интегральным показателем: с одной стороны - реакций иммунной системы хозяина, с другой стороны - результатом активного изменения иммунологических реакций со стороны паразита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые данные, полученные в диссертационной работе Гришиной Елены Анатольевны, вносят существенный вклад в изучение молекулярных и клеточных механизмов развития иммунопатологических изменений в организме млекопитающих при гельминтозах. Среди достоинств диссертационной работы следует также отметить большой объем использованных экспериментальных данных, глубокий статистический анализ данных, важную практическую значимость для ветеринарии и медицины. По материалам диссертации опубликовано 16 статей из списка ВАК. Результаты исследований апробированы на конференциях разного уровня. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации. Замечания и пожелания, высказанные оппонентом в результате анализа диссертационной работы Гришиной Е. А., не умаляют достоинств представляемой к защите работы.

Диссертационная работа «Иммуно-биологические основы патогенеза кишечных нематодозов» представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, соответствующее пп. 9 - 14 Положения о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 01.10.2018), а ее автор Гришина Елена

Анатолевна заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

Официальный оппонент
Кутырев Иван Александрович,
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории
паразитологии и экологии гидробионтов
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института общей и
экспериментальной биологии Сибирского
отделения Российской академии наук
(ИОЭБ СО РАН)

670047 Улан-Удэ,
ул. Сахьяновой, д. 6
ikutyrev@yandex.ru
Телефон ИОЭБ СО РАН: 8-3012-43-42-11
Сотовый телефон: 8-914-846-55-43



И.А. Кутырев

Подпись удостоверяю
Ученый секретарь Института
общей и экспериментальной
биологии СО РАН

Кутырева Л. П.
26.08.2019