

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора  
Ветлугиной Тамары Парфеновны на диссертацию Аникеевой Ольги Сергеевны  
«НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННЫЙ СТАТУС ВЗРОСЛЫХ РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ  
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК В ЮВЕНИЛЬНОМ  
ПЕРИОДЕ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук  
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Несомненная актуальность диссертационного исследования О. С. Аникеевой обоснована все более широким применением клеточных технологий в медицинской практике, необходимостью изучения влияния трансплантируемых клеток на организм, особенно в детском возрасте, с целью уточнения показаний к терапии, прогнозирования возможного исхода, а также для разработки алгоритмов оптимального выбора донорского материала для реципиента. Важнейшую роль в формировании посттрансплантационного гомеостаза играет нейроиммуноэндокринная система. В связи с этим автор определяет целью своей работы изучение влияния на формирование иммунного и нейроэндокринного фенотипов у половозрелых мышцей-реципиентов трансплантированных им в ювенильном периоде иммунокомпетентных клеток от сингенных мышцей-доноров с активным и пассивным типами поведения.

Диссертация О. С. Аникеевой состоит из введения (глава 1); главы 2, посвященной обзору литературы по теме исследования; главы 3 с характеристикой экспериментальных животных и описанием методов исследования; главы 4, включающей 1 раздел и 5 подразделов с результатами собственных исследований; главы 5 с обсуждением полученных результатов; заключения, выводов; списка сокращений, списка литературы. Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 5 рисунками. Библиографический указатель включает 393 источника, из них 141 отечественных.

Во введении (Глава 1) автор убедительно обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну, теоретическую и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, представляет перечень конференций различного уровня, на которых были представлены результаты исследования.

Глава 2 посвящена обзору литературы по теме исследования и состоит из трех основных разделов, в которых приведен анализ данных литературы о взаимосвязи и взаиморегуляции нервной, иммунной и эндокринной систем, формировании нейроиммуноэндокринных связей в онтогенезе и о проблеме нейроиммуноэндокринных взаимодействий при использовании клеточных технологий. Глава содержит большой объем данных, и без ущерба для диссертации можно было бы несколько сократить разделы,

посвященные общим аспектам взаимодействия нервной, иммунной и эндокринной систем, используя эту литературу при обсуждении результатов исследования.

В целом анализ литературы представляет несомненный интерес, особенно освещение механизмов формирования нейроиммуноэндокринных взаимосвязей в онтогенезе и при использовании клеточных технологий. В заключении автор резюмирует представленную в главе информацию, которая дает полное представление о современном состоянии проблемы и позволяет убедительно обосновать актуальность предпринятого исследования.

В главе 3 "Материалы и методы исследования" дана характеристика экспериментальных животных, подробно описан широкий спектр лабораторных методов исследования: ОИП в тесте «открытое окно», получение суспензии спленоцитов, методика трансплантации спленоцитов мышам-реципиентам, определение количества АОК в селезенке, интенсивности ГЗТ, уровня пролиферативной активности спленоцитов, уровня апоптоза, субпопуляционного состава спленоцитов, концентрации цитокинов, BDNF, кортикостерона и тестостерона. Для обработки полученных данных автором применены адекватные методы статистического анализа. В целом, проведен большой объем экспериментальных исследований на современном методологическом и методическом уровнях, что позволило О. С. Аникеевой решить сформулированные задачи в рамках поставленной в работе цели.

В главе 4 приведены результаты собственных исследований; глава открывается разделом 4.1.1. «Дизайн исследования».

Раздел 4.1.2. посвящен характеристике трансплантируемых клеток, полученных от мышей-доноров с активным и пассивным типами поведения. Установлено, что иммунокомпетентные клетки (ИКК) мышей с оппозитными типами поведения обладают разной функциональной активностью (спонтанная и митогениндуцированная пролиферативная активность, субпопуляционный состав) и, как полагает автор, могут оказывать разное влияние на формирование нейроиммуноэндокринного фенотипа реципиентов в период раннего постнатального онтогенеза. Для проверки этой гипотезы соискателем проведены дальнейшие исследования.

В разделе 4.1.3. (4.1.3.1. – 4.1.3.5.) приведены результаты исследования показателей иммунитета половозрелых мышей-реципиентов, которым в ювенильном периоде трансплантировали ИКК от доноров с различным типом поведения. Определяли пролиферативную активность (спонтанную и индуцированную Кон А и ЛПС) спленоцитов, уровень апоптоза  $CD4^{+}$  и  $CD8^{+}$  клеток (спонтанного и в присутствии aCD3 и дексаметазона), интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа *in vivo* (число АОК селезенки, уровень реакцию ГЗТ), концентрацию ряда цитокинов в лизатах селезенки и в супернатантах культуры спленоцитов. Установлено, что реципиенты, получившие ИКК от доноров с пассивным типом поведения, характеризовались наиболее низкими значениями, практически, всех исследуемых параметров по сравнению с контрольными животными, не



подвергавшимся введению ИКК. Тогда как у реципиентов, получивших ИКК от доноров с активным типом поведения, по сравнению с контрольными животными регистрировались более высокие показатели ГЗТ, спонтанной пролиферативной активности спленоцитов, концентрации ИЛ-10 в селезенке, спонтанной продукции ИФН- $\gamma$  спленоцитами. Выявлены также определенные различия показателей иммунитета между оппозитными группами мышей-реципиентов.

*Раздел 4.1.4. (4.1.4.1.– 4.1.4.5)* посвящен результатам изучения нейроэндокринного статуса мышей-реципиентов, которым в ювенильном периоде трансплантировали ИКК от доноров с различным типом поведения. Были определены типы поведения в тесте ОИП, концентрация цитокинов, BDNF, кортикостерона, тестостерона в лизатах головного мозга и отдельных его структур, концентрация стероидных гормонов в сыворотке крови.

Установлено, что при трансплантации ИКК от доноров с оппозитными типами поведения в группе мышей-реципиентов к половозрелому периоду формируется преимущественно тип поведения, свойственный донорам; этот тип поведения у реципиентов сохраняется до 9-месячного возраста. При исследовании спектра цитокинов важным фактом является выявление в лизатах головного мозга, в основном в коре, мышей-реципиентов, которым трансплантировали спленоциты доноров с пассивным типом поведения, высокой концентрации ИЛ-1 $\beta$ , выполняющего существенную роль в регуляции поведенческих реакций. В этой же группе мышей-реципиентов была также снижена концентрация BDNF в лизатах фронтальной коры и гиппокампа, отмечен более выраженный гормональный дисбаланс.

Далее автор в *разделе 4.1.5., в таблицах 15 и 16* систематизирует большой массив полученных данных и проводит сравнительный анализ особенностей иммунного и нейроэндокринного статусов обеих групп мышей-реципиентов. На базе комплекса полученных данных и его анализа автор приходит к обобщенному заключению – у сингенных реципиентов к половозрастному периоду формируется определенный нейроиммуноэндокринный фенотип, детерминируемый функциональными характеристиками трансплантируемых клеток.

В *разделе «Обсуждение» (Глава 5)* автор подробно с привлечением литературы обсуждает полученные результаты, приводит убедительные обоснования участия исследуемых факторов в механизмах формирования нейроиммуноэндокринных функциональных связей в постнатальном онтогенезе, возможного влияния на эти процессы трансплантируемых клеток с различным фенотипом.

Кроме обсуждения автор кратко резюмирует результаты диссертационного исследования в *«Заключении»*.

Диссертацию завершают 7 выводов, полностью соответствующих задачам исследования.

Общие замечания по диссертации.

При структурировании разделов диссертации допущена техническая ошибка: «Введение» обозначено как Глава 1, «Обсуждение» – как Глава 5. Кроме того, в Главе 3 «Материалы и методы исследования» желательны подразделы. Главе 4 с результатами собственных исследований содержит только один большой раздел и множество под/подразделов; можно было бы для удобства восприятия и анализа материала разделить главу на 3 раздела: 1 – характеристика трансплантируемых клеток; 2 – показатели иммунитета...; 3 – нейроэндокринный статус....

В задачах планируется исследование нейроиммуноэндокринного статуса у реципиентов после повторной трансплантации, далее по тексту появляется – «после трехкратной трансплантации», и только из главы «Материалы и методы» становится понятным, что автор определение «повторная трансплантация» относит к трехкратной трансплантации, хотя в словарях русского языка слово «повторный» означает «вторичный, по второму разу».

В обзоре литературы (Глава 2) к работам «последнего десятилетия» относятся ссылки на литературу 2000-2001 года. При ссылках на авторов цитируемых работ в скобках приводятся фамилии авторов без инициалов.

В главе 3 «Материалы и методы исследования» не указан возраст мышей-доноров, при описании методов исследования ОИП не приводятся критерии деления животных на группы с активным и пассивным типами поведения.

В главе 4 «Результаты собственных исследований», в разделе 4.1.3., посвященном показателям иммунитета у половозрелых реципиентов (пролиферативная активность, апоптоз, АОК, ГЗТ, цитокины) на стр. 79 автор делает заключение, что «интенсивность реакции ГЗТ у реципиентов схожа с таковой у мышей-доноров». Однако у доноров реакция ГЗТ не определялась, исследовались пролиферативная активность спленоцитов и их субпопуляционный состав. Правда, в разделе 4.1.2. автор ссылается на результаты, полученные ранее Е. В. Марковой и другими авторами о различиях степени выраженности иммунных реакций у используемых в исследованиях мышей (CBA x C57Bl/6)F1 с оппозиционными типами поведения. Однако это литературные данные, которые корректнее привести в обсуждении результатов собственных исследований.

Вместе с тем, диссертация написана хорошим языком, легко читается, практически отсутствуют орфографические ошибки.

В целом результаты диссертационного исследования О. С. Аникеевой имеют как теоретическое, так и потенциальное практическое значение.

Впервые исследован спектр нейроиммуноэндокринных показателей у половозрелых мышей-реципиентов, которым в ювенильном периоде была проведена трехкратная трансплантация иммунокомпетентных клеток от сингенных доноров с активным и пассивным



типами поведения. Выявлены различия между иммунными и эндокринными параметрами у половозрелых мышей-реципиентов и животных без адоптивного переноса ИКК. Установлены различия нейроиммуноэндокринного статуса у сингенных половозрелых реципиентов после трехкратной трансплантации в ювенильном периоде спленоцитов от особей с оппозитными типами поведения. Несомненную теоретическую и потенциальную практическую значимость представляет экспериментальное доказательство влияния функционального фенотипа трансплантируемых клеток реципиентам в ювенильном периоде на формирование нейроиммуноэндокринного гомеостаза к отдаленному периоду половозрелости.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна подтверждены представленным фактическим материалом и высоким научно-методическим уровнем исследования.

Список литературы свидетельствует о широких научных интересах диссертанта в исследуемой области. Результаты диссертации отражены в 27 научных публикациях (из них 9 статей опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, включая 2 статьи – в базе данных WoS), представлены на различных российских и международных конференциях.

В целом принципиальных недостатков диссертация О. С. Анисеевой не содержит, высказанные замечания не снижают ее большой теоретической и практической значимости.

В порядке дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Как можно объяснить, что наибольшее влияние на формирование нейроиммуноэндокринного фенотипа у половозрелых реципиентов оказывают ИКК мышей-доноров с пассивным типом поведения?
2. Какие параметры из широкого спектра исследуемых в диссертации можно рекомендовать в дальнейшем для разработки показаний применения клеточных технологий и прогнозирования возможных рисков?

### **Заключение**

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Анисеевой «Нейроиммуноэндокринный статус взрослых реципиентов после трансплантации иммунокомпетентных клеток в ювенильном периоде: экспериментальное исследование», выполненная под руководством доктора медицинских наук Марковой Евгении Валерьевны, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение задачи, имеющей существенное значение для клинической иммунологии, аллергологии: установлено, что особенности формирования нейроиммуноэндокринного фенотипа у половозрелых реципиентов, получивших трансплантацию иммунокомпетентных клеток в ювенильный

период от сингенных доноров с оппозиционными типами поведения, детерминированы функциональными характеристиками трансплантируемых клеток.

По актуальности, научной новизне и практической значимости, объему и методическому уровню исследований, обоснованности научных положений и выводов, полноте освещения материалов в рецензируемых научных изданиях работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакциях постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168), а ее автор Аникеева Ольга Сергеевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

ведущий научный сотрудник лаборатории  
клинической психонейроиммунологии и нейробиологии  
научно-исследовательского института  
психического здоровья ФГБНУ  
«Томский национальный исследовательский  
медицинский центр Российской академии наук»,  
доктор биологических наук по специальностям:  
14.00.03 – патологическая физиология,  
14.01.05 - психиатрия,  
профессор по специальности  
«Аллергология и иммунология»,  
заслуженный деятель науки РФ,

Тамара Парфеновна Ветлугина

31 августа 2020 года.

634004 Томск, ул. Алеутская, 4  
Тел.: +7(3822) 72-44-15  
E- mail: vetlug@mail.tomsknet.ru  
Сайт: <http://tomskinstitut.mental-health.ru>

Подпись официального оппонента

доктора биологических наук, профессора Т. П. Ветлугиной  
заверяю

Зам. директора по науке ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук», доктор биологических наук,  
профессор РАН



И. Н. Лебедев