

В диссертационный совет по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 21.2.080.01, созданный на базе ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51

ОТЗЫВ

официального оппонента Антонова Виктора Георгиевича, доктора медицинских наук, профессора кафедры биологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Круглова Сергея Дмитриевича на тему «Роль метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови в формировании клеточно-опосредованного иммунного ответа», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности

1.5.5. Физиология человека и животных

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа С.Д. Круглова «Роль метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови в формировании клеточно-опосредованного иммунного ответа» посвящена изучению влияния активности путей метаболизма, связанных с наработкой основного внутриклеточного макроэрга – АТФ, на популяционный состав лимфоцитов и формирование иммунных реакций в ответ на действие холода.

В настоящее время одно из новых актуальных направлений в иммунологии – иммунометаболизм становится объектом всестороннего изучения, поскольку

именно метаболические перестройки играют важную роль во всех фазах развития иммунного ответа, влияя на пролиферацию, дифференцировку, эффекторные функции и дальнейшую судьбу лимфоцитов. При этом внутриклеточное перенаправление метаболических потоков находится под контролем белков-регуляторов, таких как HIF-1 α – регулятора гликолиза и SIRT3, регулирующего путь окислительного фосфорилирования в митохондриях. В работе представлены результаты, отражающие содержание указанных выше регуляторов метаболических путей и уровень АТФ, сопряженный с их работой. Полученные данные позволили автору оценить метаболическую активность и энергетическую обеспеченность лимфоцитов периферической крови и в последующем установить их роль в развитии клеточно-опосредованных иммунных реакций в ответ на холодовое действие. Исследования в области метаболизма иммунокомпетентных клеток являются весьма актуальными, особенно значимо что в представленной работе были обследованы люди, имеющие первую или вторую группу здоровья.

Связь выполненной работы с государственными и научными программами

Диссертационное исследование было выполнено на базе лаборатории экологической иммунологии Института физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН в рамках программ, имеющих следующие номера государственной регистрации НИОКТР: 122011900104-1 и 122011300377-5.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций

Научная новизна исследования С.Д. Круглова заключается прежде всего в том, что показатели метаболической активности и энергетической обеспеченности, при изучении которых, как правило, используются клеточные линии или иные модели, были определены в лимфоцитах периферической крови волонтеров, имеющих первую или вторую группу здоровья.

Автором установлено, что в лимфоцитах периферической крови внутриклеточная концентрация АТФ, их абсолютное содержание и популяционный состав взаимообусловлено изменяются. Дана оценка активности

метаболизма лимфоцитов периферической крови на основании измеренного внутриклеточного содержания регуляторов гликолиза (HIF-1 α) и окислительного фосфорилирования в митохондриях (SIRT3). Исследовано влияние соотношения HIF-1 α /SIRT3 на концентрацию лимфоцитов и их фенотипов. Выявлены варианты реагирования лимфоцитов периферической крови в ответ на кратковременное общее охлаждение организма, при этом характер изменений концентрации цитокинов, содержания лимфоцитов и их фенотипов определяется уровнем энергетической обеспеченности клеток.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Достоверность научных положений и выводов, представленных в диссертационной работе Кругловым С.Д. не вызывает сомнений. Соискателем выполнен достаточный объём исследований с соблюдением всех требований к организации преаналитического, аналитического и постаналитического этапов. Применяемые методики адекватны и способствуют решению поставленных задач. Сравнительный и корреляционный анализ полученных количественных значений проведён в соответствии с общепринятыми методами статистической обработки в пакетах программного обеспечения STATISTICA v 11.0 и MS Excel 2017.

Выводы логично вытекают из представленных данных, полностью соответствуют сформулированным задачам и отражают все положения, выносимые на защиту.

Научно-практическая ценность полученных автором результатов

В теоретическом плане представленная работа вносит значительный вклад в область изучения физиологии иммунокомпетентных клеток, так как расширяет имеющиеся представления о влиянии метаболизма лимфоцитов на механизмы формирования клеточно-опосредованных иммунных реакций. Следует отметить, что несмотря на многообразие процессов, опосредующих реализацию клеточного реагирования, автору удалось получить данные об энергетическом статусе и метаболической активности клеток путем определения отдельных ключевых участников программ метаболических перестроек в лимфоцитах периферической крови (HIF-1 α и SIRT3).

В практическом плане полученные результаты могут иметь самое широкое применение. Измерения внутриклеточных концентраций HIF-1 α , SIRT3 и АТФ могут послужить информативными показателями состояния иммунной системы. В частности, снижение уровня энергообеспеченности может являться признаком истощения иммунокомпетентных клеток, а соотношение HIF-1 α /SIRT3 позволяет оценить способность лимфоцитов к реагированию.

Важным преимуществом определения метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови является возможность провести более полную оценку эффективности работы иммунной системы, избегая одновременной интерпретации большого числа показателей. Также становится возможным более раннее обнаружение нарушений в работе иммунокомпетентных клеток.

Оценка содержания диссертации

Оформление диссертации выполнено согласно требованиям ВАК Минобрнауки РФ. Работа состоит из введения, обзора литературы, включающего две подглавы, материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, разделённых на 3 подглавы, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, содержащего 250 источников, и списка сокращений. Диссертация изложена на 116 листах машинописного текста, иллюстрирована 4 таблицами и 26 рисунками. Обзор литературы достаточно подробный, опирается на современные релевантные источники литературы. Приведённые методики исследования и методы статистической обработки адекватны и соответствуют поставленным задачам. Результаты исследования наглядно иллюстрированы таблицами и схемами, описание которых даётся в тексте диссертации с соответствующими ссылками. В заключении обобщается полученная информация и приводится её теоретическое объяснение на основании данных современной литературы. По результатам работы автором сделано три вывода и даны две практические рекомендации.

Соответствие паспорту специальности

По объёму и новизне полученных данных и разработанных теоретических положений диссертационная работа Круглова Сергея Дмитриевича на тему «Роль метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови в формировании клеточно-опосредованного иммунного ответа» полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки) по областям исследования, в частности:

пункт 1 – «изучение закономерностей и механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма человека, механизмов функционирования клеток, принципов их системной организации»;

пункт 2 – «анализ молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических процессов и функций человека»;

пункт 3 – «исследование закономерностей физиологических процессов и функций отдельных систем (иммунной, обмена веществ и энергии) организма человека»;

пункт 5 – «биохимический и иммунобиологический статус человека и взаимосвязь этих показателей с их функциональной способностью».

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По материалам диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, из них – 5 в рецензируемых журналах, входящих в перечень Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ, рекомендованных для публикации работ на соискание учёной степени кандидата наук.

Результаты диссертации апробированы на международной конференции «Биомониторинг в Арктике» (Архангельск, 2020), международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения, инновации» (Пенза, 2020), международной конференции «Сбережение здоровья человека в Арктике»

(Архангельск, 2022), заседаниях учёного совета Института физиологии природных адаптаций УрО РАН (Архангельск, 2020-2022).

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс факультета медико-профилактического дела и медицинской биохимии ФГБОУ ВО «Северный государственный университет» (г. Архангельск) Минздрава России при изучении дисциплин «Медицинская биохимия: принципы измерительных технологий в биохимии, патохимии, диагностике, биохимии злокачественного роста» (акт внедрения от 19.06.2023) и работу центра профессиональной диагностики «Биолам» (г. Архангельск), акт внедрения от 02.02.2023.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе медицинских образовательных учреждений, в таких дисциплинах как нормальная физиология, иммунология, биомедицинская химия и молекулярная биология. В научной сфере эти данные могут применяться для изучения состояния иммунной системы в крупных исследованиях при рутинной оценке иммунного статуса и в практике клинико-диагностических лабораторий для более ранней диагностики нарушений в функционировании иммунитета.

Личный вклад автора

Соискатель учёной степени С.Д. Круглов принимал непосредственное участие в постановке и формулировке рабочей гипотезы научной проблемы, разработке дизайна исследования, самостоятельно проводил поиск и анализ литературы по теме диссертационной работы, осуществлял забор биологического материала и измерение показателей согласно методикам, проводил статистическую обработку первичных данных и интерпретацию полученных результатов. Работа оформлена и написана автором единолично.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки РФ и полностью отражает цель, задачи, методы исследования, основное

содержание работы, выводы, практические рекомендации и содержит список публикаций по теме исследования.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В тексте диссертации встречаются отдельные стилистические и орфографические погрешности. Принципиальных замечаний по рецензируемой работе не имеется. В дискуссионном плане считаю необходимым обсудить следующие вопросы:

1. При использовании методики выделения лимфоцитов в градиенте плотности фиколл-верографин возможно попадание других клеточных фракций. Проверилась ли чистота выделенной клеточной взвеси и если да, то каким образом?

2. Во втором выводе автор отмечает, что «увеличение соотношения HIF-1 α /SIRT3 характеризуется возрастанием удельного веса CD4+, CD8+, CD10+, CD25+ клеток». Чем обусловлено повышение содержания регулятора гликолиза HIF-1 α в этих клетках?

3. На сегодняшний день технология Seahorse XF, которая позволяет проводить кинетическое измерение концентраций кислорода и протонов в средах культивирования клеток, считается золотым стандартом в исследовании клеточного метаболизма. Какие на ваш взгляд принципиально новые возможности открывает применение данной технологии в определении метаболических сдвигов при активации иммунокомпетентных клеток? И планируете ли вы использовать её в перспективе продолжения ваших исследований?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеизложенное позволяет считать диссертационную работу Круглова Сергея Дмитриевича «Роль метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови в формировании клеточно-опосредованного иммунного ответа», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), законченной самостоятельной

научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача в области 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), имеющей важное практическое и теоретическое значение. Совокупность результатов исследования значима для решения проблемы физиологии иммунокомпетентных клеток, роли регуляторов метаболических путей наработки АТФ в формировании клеточно-опосредованного иммунного ответа. Работа полностью соответствует требованиям п.п. 9, 10 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018, с изменениями от 26.05.2020, 20.03.2021 № 426, 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам диссертант заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки).

Официальный оппонент:

д.м.н., профессор кафедры биологической химии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет»

Минздрава России

Виктор Георгиевич Антонов

« 7 » ноября 2023 г.

Подпись Антонова В.Г. заверяю

специалист по кадрам
Татьяна Тамшурова К.Ю.



Сведения об организации:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2.

Телефон: 8(812) 295-06-46; 8(812) 542-39-83.

Адрес электронной почты: spb@gpmu.org.

Официальный сайт: www.gpmu.org.