

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Джалиловой Джулии Шавкатовны «Морфологические и молекулярно-биологические особенности системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология**

### **Актуальность темы выполненной работы**

В работе Джалиловой Д.Ш. исследуется вопрос сопряженности воспалительного процесса (его выраженности, продолжительности, повреждающих эффектов) с базовой врожденной устойчивостью организма к гипоксии, экспериментально обосновываются новые подходы к коррекции системной воспалительной реакции, направленные на регуляцию активности транскрипционных факторов HIF-1 $\alpha$ /NF- $\kappa$ B. Накопленные к настоящему времени данные мировой науки свидетельствуют, что ключевой регулятор генно-опосредованных механизмов адаптации к гипоксии HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ; фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией) активизирует экспрессию провоспалительных цитокинов, TLRs (Toll-like receptors), вовлечен в активацию макрофагов и нейтрофилов. NF- $\kappa$ B, координирующий экспрессию свыше 100 генов иммунного ответа и воспаления, регулируется гипоксией подобно HIF-1 $\alpha$ , поскольку в механизмах его инактивации задействованы O<sub>2</sub>-зависимые пролилгидроксилазы (PHD 1). В целом, сформировалось представление о патогенетической роли провоспалительных эффектов гипоксии в развитии целого ряда заболеваний: церебральных невропатий (большое депрессивное расстройство, эпилепсия, мигрень, аутизм, болезнь Альцгеймера, паркинсонизм), атеросклероза, колита, артрита, псориаза и др. Взаимоусиливающее влияние механизмов гипоксии и воспаления приводит к формированию «порочного круга» и дисрегуляции воспалительного процесса.

В этой связи высокую актуальность имеют исследования особенностей развития и коррекции воспалительной реакции в зависимости от

индивидуальной врожденной устойчивости организма к гипоксии. В диссертационном исследовании Джалиловой Д.Ш. впервые выявлены особенности экспрессии гипоксия-зависимых провоспалительных факторов транскрипции HIF-1 $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, гуморальных факторов воспалительно-репаративного ответа (IL-1 $\beta$ , С-реактивный белок, неоптерин, IL-10, TGF- $\beta$ , VEGF, эритропоэтин), профиль иммунных клеток периферической крови и внутренних органов после острого гипоксического и бактериально-токсического воздействия у животных с врожденными различиями в устойчивости к гипоксии. Полученные данные имеют исключительное значение для понимания патогенетических механизмов инфламаторных заболеваний, дисрегуляции воспалительного процесса и формирования эффективной терапии инфекционного и асептического воспаления.

### **Научная новизна работы**

В работе впервые установлено, что в ранние сроки после гипоксического воздействия только у низкоустойчивых к гипоксии крыс развиваются провоспалительные реакции, которые характеризуются увеличением содержания в сыворотке крови маркера окислительного стресса 8-изопростана и меньшей, в сравнении с высокоустойчивыми крысами, экспрессией TGF- $\beta$ , а через месяц после гипоксической нагрузки наблюдается повышенная экспрессия генов *Hif-1 $\alpha$*  и *Vegf* в печени и функциональная активация иммунной системы.

Автором впервые показано, что низкоустойчивые к гипоксии крысы по сравнению с высокоустойчивыми в ответ на введение липополисахарида демонстрируют более выраженные провоспалительные и противовоспалительные реакции. Системная воспалительная реакция у низкоустойчивых к гипоксии крыс сопровождается смещением баланса иммунных реакций в сторону гуморальных, а у высокоустойчивых – клеточных.

В представленной работе дан ответ на два важных методических вопроса: впервые выявлена зависимость устойчивости к гипоксии от инфрадианного биоритма содержания кортикостерона – в акрофазу его 4-суточного биоритма время жизни животных на критической «высоте» больше, чем в батифазу; обосновано, что целесообразно проводить

эксперименты через один месяц после острой гипоксической нагрузки, так как в этот срок воспалительные изменения отсутствуют.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа выполнена на достаточном для получения обоснованных выводов количестве животных. Использована широко распространенная, адекватная, высоко воспроизводимая модель системной воспалительной реакции, индуцированной липополисахаридом. Применен комплекс традиционных и современных методов исследования, таких как гистологические, морфометрические, биохимические и культуральные методы, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ, ПЦР в режиме реального времени. Проведен адекватный статистический анализ. Выводы логично вытекают из полученных результатов и являются достоверными.

### **Значимость для науки и практической медицины полученных автором результатов**

Результаты диссертационного исследования по морфологическим и молекулярно-биологическим особенностям системной воспалительной реакции в зависимости от устойчивости к недостатку кислорода вносят существенный вклад в понимание молекулярно-биологических механизмов о взаимосвязи гипоксии и воспаления. Полученные данные о молекулярно-биологических и морфологических особенностях реакции на острое гипоксическое воздействие обосновывают сроки проведения экспериментальных исследований на животных после определения устойчивости к гипоксии. Важным методическим аспектом работы является выявление зависимости устойчивости к гипоксии от 4-суточного инфрадианного биоритма концентрации кортикостерона в сыворотке крови. Результаты по взаимосвязи устойчивости к гипоксии и инфрадианного биоритма концентрации кортикостерона, а также о сроках проведения экспериментов после гипоксического воздействия необходимо учитывать при проведении исследований по изучению чувствительности к недостатку кислорода в авиационной и космической медицине, а также доклинической оценке терапевтической эффективности антигипоксантов и антиоксидантов.

Данные о структурных и молекулярно-биологических различиях в норме и при индуцированной ЛПС системной воспалительной реакции у высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии крыс являются доказательной базой для разработки новых персонализированных подходов к профилактике и лечению инфекционных и воспалительных заболеваний человека.

Результаты диссертационного исследования используются в курсе лекций на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

**Личный вклад автора** заключался в планировании и проведении экспериментов, определении устойчивости крыс к гипоксии, моделировании системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии, анализе результатов и их адекватной статистической обработке, а также обобщении и сравнении их с данными современной литературы, подготовке публикаций.

Диссертационное исследование построено логично, работа написана по классической схеме. Обзор литературы, включающий 592 источника (100 отечественных и 492 зарубежных) дает полное представление о современном состоянии исследуемой проблемы и раскрывает вопросы, не нашедшие разрешения на сегодняшний день, что позволяет обосновать цель и задачи исследования. Полученные автором результаты изложены последовательно, хорошим литературным языком. Диссертационный материал содержит 65 таблиц, иллюстрирован микрофотографиями высокого качества, 58 рисунками и диаграммами, а также наглядными схемами.

В автореферате и опубликованных работах отражены основные положения диссертации. По материалам работы опубликовано 13 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах из Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. Результаты доложены на 8 Всероссийских и международных конференциях.

Выводы основаны на большом фактическом материале и логично вытекают из результатов, полученных лично автором.

Есть все основания признать работу завершенной. Принципиальных замечаний, влияющих на положительную оценку работы Д.Ш. Джалиловой нет.

При ознакомлении с работой возникают вопросы, касаемые, главным образом, перспектив исследования:

1. В оценке экспрессии HIF-1 $\alpha$  и NF-kB в печени было использовано определение уровня мРНК. Почему не было определено содержание белка HIF-1 $\alpha$  и NF-kB? Известно, что гипоксические воздействия блокируют трансляцию, в связи с чем изменения в содержании мРНК и белка HIF-1 $\alpha$ /NF-kB могут не соотноситься друг с другом. Определение уровня белка провоспалительных факторов транскрипции может иметь существенное значение при разработке подходов к фармакологической модуляции их активности и экспрессии в условиях воспаления.

2. В модели системной воспалительной реакции гистологическую оценку повреждений выполняли в печени, легких, тимусе и селезенке. С чем связан выбор этих органов? Планируется ли изучение нефро-, кардио-, церебротоксических эффектов у низко- и высокоустойчивых к гипоксии крыс при внутрибрюшинном введении ЛПС?

### **Заключение**

Диссертация Д.Ш. Джалиловой является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научная задача – изучение морфологических и молекулярно-биологических особенностей системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Результаты диссертационного исследования имеют большое теоретическое и практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии и патофизиологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Джалиловой Д.Ш. «Морфологические и молекулярно-биологические особенности системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии»,

