

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, члена-корреспондента РАН, **Дюйзен Инессы Валерьевны**, ведущего научного сотрудника лаборатории фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук на диссертационную работу **Коваленко Ивана Сергеевича** «Регуляция системной воспалительной реакции экзогенными этаноламинами жирных кислот при легкой бронхиальной астме», представленную к защите в объединенный диссертационный совет 99.0.062.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

### Актуальность исследования

В центре внимания данного диссертационного исследования стоит системное хроническое воспаление, механизмы реализации которого, репертуар молекулярных и клеточных исполнителей, длительность и динамика развития определяют, в конечном итоге, характер основной соматической патологии. Значительные изменения в понимании роли и важности коморбидного основному заболеванию воспалительного процесса, протекающему как в стадии обострения, так и при наступлении клинической ремиссии, ставят данное патофизиологическое явление в центр внимания клинической и профилактической медицины. Зачастую хроническое воспаление сопровождается некритическими изменениями в рутинных лабораторных анализах пациентов, однако его наличие, детектируемое современными молекулярными тестами, может в значительной мере определить клиническую динамику основной клинической патологии. При видимой универсальности молекулярных и клеточных исполнителей системного воспаления, отдельные нозологии реализуют некоторые специфические сценарии реализации воспалительного процесса, расшифровка которых не только расширяет представление о патогенезе заболевания, но и позволяет проводить персонифицированную коррекцию патологии даже в период ее ремиссии.

Бронхиальная астма, как тяжелое, клинически и патофизиологически гетерогенное, прогрессирующее заболевание бронхо-легочной системы, несомненно, характеризуется особенностями реализации воспалительного процесса, расшифровка которых является актуальной задачей фундаментальной и практической медицины. Несмотря на значительные усилия исследователей, данная проблема далека от разрешения, о чем свидетельствует нарастающее число как пациентов с бронхиальной астмой, так и больных с фармакорезистентными формами данной патологии. В этой связи актуальность данного исследования не вызывает сомнений. Хочется отметить также грамотно продуманный дизайн данной научной работы и выбор в качестве объекта исследования пациентов с легкой формой (начальной стадией) бронхиальной астмы и дифференциацию групп исследования на пациентов с фармако-контролируемой и частично контролируемой



формами заболевания. Предметом данного сложного исследования является взаимодействие гуморальных (иммунных) и липидных компонентов в организации хронического системного воспаления, сопровождающего бронхиальную астму. Очень большой, сложный и многокомпонентный набор изучаемых параметров автор анализирует адекватными методами статистической обработки, позволяющих выявить патофизиологически значимые векторы взаимодействия иммунных и липидных медиаторов и охарактеризовать потенциальный вклад жирнокислотного профиля в баланс про- и противовоспалительных систем.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертационная работа И.С.Коваленко довольно компактна, изложена на 130 страницах. Она построена по традиционному принципу и содержит все необходимые разделы – введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 3 раздела результатов собственных исследований, их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации. Список используемой литературы содержит 220 источников, значительная часть которых представлена работами последнего десятилетия. Работа иллюстрирована 23 рисунками и содержит 13 таблиц.

Во введении четко обоснована актуальность разрабатываемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования и его методология, сформулированы положения, выносимые на защиту. Формулируя цели и задачи, автор исходит из текущих пробелов и противоречий в данной области исследования, связанных со значением эндогенных липидных медиаторов в развитие системного воспаления при бронхиальной астме. Следует сразу отметить, что формулировка положений, выносимых на защиту, больше напоминает выводы – они, на мой взгляд, чрезмерно детализированы за счет указания конкретных доз этаноламинов и конкретных молекулярных мишеней.

Обзор литературы содержит разделы, описывающие текущее представление о патогенезе бронхиальной астмы и роли воспаления в течении и прогрессировании заболевания. Значительное внимание в литобзоре отводится роли отдельных жирных кислот и их эндогенных метаболитов в воспалительных процессах. Важным аспектом, с точки зрения автора, является тот факт, что отдельные жирные кислоты могут являться источником как провоспалительных, так и про-разрешающих процессов либо самостоятельно, либо за счет активации соответствующих факторов воспаления, либо за счет активации отдельных клеток. Большое внимание уделено в литобзоре механизмам синтеза, метаболической трансформации, рецепторным взаимодействиям и известному вкладу в воспалительный процесс N-ацилэтаноламинов жирных кислот. Данный класс эндогенных метаболитов в настоящее время находится в зоне пристального внимания исследователей за счет широкого спектра регуляторных воздействий на многие процессы. В целом из представленной в литобзоре информации четко прорисовываются не только актуальность данного исследования, но и большой потенциал его результатов для практической медицины.

Материалы и методы. Данная глава написана достаточно компактно, логично, обоснованно и с учетом формулируемых целей и задач. Описаны группы исследованных пациентов, охарактеризованы критерии их включения и исключения, перечисленные клинические и функциональные пробы, подтверждающие их участие в отдельных



подгруппах исследования, охарактеризованы методы биохимического, иммунологического анализа биологического материала и экспериментальные подходы к работе с биологическим материалом, полученным от пациентов. Обоснованы методы статистического анализа и расчетные показатели, используемые для анализа первичных данных. Следует отметить, что применяемая в работе количественная оценка отдельных жирных кислот и их этаноламинов является весьма трудоемкой процедурой и в настоящее время доступна немногим лабораториям.

В главах, посвященных описанию собственных исследований, изложены основные результаты, полученные в ходе проведения исследования и послужившие основанием для формулировки выводов. Заслуживает одобрения тот факт, что в описании результатов автор приводит как данные абсолютного содержания искомых факторов в сыворотке крови, так и показатели их отклонения от соответствующих значений у здоровых пациентов. Это позволяет более рельефно оценить глубину и направленность диспропорций молекулярных исполнителей воспаления.

Значительные изменения, обнаруженные в составе жирных кислот плазмы крови, позволили автору сделать важные обобщения не только относительно их отдельных фракций, но и порассуждать об активности соответствующих ферментов их синтеза. Используемый автором подход имеет довольно хорошие перспективы для выявления метаболических закономерностей, обеспечивающих специфику взаимодействия отдельных классов липидных сигнальных молекул в регуляции нормальных и патологических процессов в организме человека.

Важным достижением данной работы является оценка уровня содержания N-ацилэтаноламинов жирных кислот и проведение анализа силы их влияния на детектируемый цитокиновый статус пациентов с бронхиальной астмой. Показано, что выявленный профиль цитокинов у пациентов с легкой бронхиальной астмой и преобладание в провоспалительной фракции интерлейкинов 17 и 6 имеет значительную связь с особенностями жирнокислотного спектра.

Дополнительные подтверждения вклада метаболитов жирных кислот в гуморальный статус воспаления получены в большой серии экспериментов, целью которых было изучение влияния этаноламинов арахидоновой, докозагексаеновой и эйкозапентаеновой жирных кислот на синтез цитокинов и оксипинов клетками крови. Проведенный автором сравнительный анализ чувствительности клеток пациентов контрольной группы и группы наблюдения позволил выявить новые интересные данные о развитии дозо-зависимых эффектов исследуемых соединений на активность факторов воспаления. Все полученные результаты хорошо и наглядно иллюстрированы. Исключение составляют лишь данные, приведенные на рисунке 17, где линиями соединяются не показатели динамического эффекта на один и тот же показатель, а показатели уровня разных цитокинов при действии одной дозы препарата. Мне кажется, для отражения динамики наблюдаемого явления можно было выбрать иной способ иллюстрирования.

### **Научная новизна и практическая значимость полученных результатов**

Большинство описываемых в работе результатов получены впервые. Показано изменение пропорций в содержании отдельных цитокинов и оксипинов, характерные для крови пациентов с легкой бронхиальной астмой. Впервые установлены признаки



дисбаланса в жирнокислотном составе периферической крови и, что особо ценно – в содержании этаноламинов отдельных жирных кислот. Учитывая тот факт, что данные эндогенные метаболиты в настоящее время рассматриваются в качестве значимых модуляторов системной воспалительной реакции при широком спектре патологий, а также – методическую сложность в анализе данных липидных соединений, абсолютные показатели их содержания в плазме крови человека являются важным результатом данной работы. Результаты сравнительной оценки регуляторного влияния N-ацилэтаноламинов ДГК, ЭПК и арахидоновой кислоты на клетки крови условно здоровых и пациентов с легкой бронхиальной астмой являются приоритетными и позволяют оценить значение липидных медиаторов в патогенезе системного воспаления. Полученные данные, несомненно, представляют значительный интерес для расшифровки механизмов реализации хронического воспаления как базиса для прогрессирования бронхиальной астмы и обеспечивают обоснование для разработки методов управления динамикой патологического процесса, основанных на точной диагностике как молекулярных исполнителей воспалительного процесса, так и сопровождающих воспаление изменений в метаболизме липидных регуляторов.

#### **Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы**

В работе использованы современные прецизионные методы исследования, включая иммуноферментный анализ широкой линейки цитокинов и оксипинов, газовая хроматомасс-спектрометрия жирных кислот, ВЭЖХ N-ацилэтаноламинов, методы экспериментальной фармакологии *in vitro*, что подтверждает обоснованность результатов и формулируемых выводов. Для каждого фрагмента исследования используются достаточные выборки экспериментального материала, методы статистической обработки адекватны задачам и условиям эксперимента. Полученные данные иллюстрированы таблицами и гистограммами, позволяющими оценить абсолютные параметры и расчетные показатели, а также качество их статистической обработки. Обращает на себя внимание и заслуживает положительной оценки выбор автором адекватных расчетных показателей, характеризующих не только динамику исследуемого явления, но и позволяющих оценить активность соответствующих метаболических систем (в частности – активность разных типов десатураз), а также весьма ценный для данного исследования метод оценки интегральной сопряженности систем. Высокий уровень внешней экспертизы данной работы, использованных в ней методов, подходов и достигаемых результатов обеспечен уровнем публикаций автора. По материалам диссертации опубликованы 18 печатных работ, 10 из которых опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК, получены 3 свидетельства о регистрации баз данных. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

#### **Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе**

Диссертационная работа И.С.Коваленко написана весьма логично, лаконично, структурирована по отдельным обсуждаемым аспектам разрабатываемой проблемы, экспериментальные подходы, ориентированные на решение поставленных задач, организованы грамотно, последовательно, с использованием адекватного набора



методических приемов и инструментальных подходов. Этапы и фрагменты исследования логически связаны между собой, результаты их тщательно проанализированы, сопоставлены с мировым опытом и формируют процесс последовательного и углубленного понимания изучаемого биологического феномена. Именно такое впечатление формирует знакомство с диссертационным исследованием И.С.Коваленко. Следует также заметить, что данная работа является продолжением длительного, детального и весьма успешного исследования, реализуемого в НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения плеядой блестящих ученых, сформировавших новые подходы к изучению и пониманию роли регуляторных липидов в патогенезе бронхо-легочной патологии.

В целом, принципиальных замечаний к диссертационной работе И.С.Коваленко нет. Есть ряд вопросов дискуссионного характера, замечаний и комментариев к тексту рукописи.

1. Понимание механизмов регуляции воспаления, особенно в клиническом материале, базируется на исследовании гуморальных факторов воспаления, секретируемых форменными элементами и/или сосудистым эндотелием в кровь. В этой связи совершенно обоснованно наблюдение за содержанием изучаемых факторов и их динамикой именно в сыворотке крови как наиболее доступном для клинической практики биологическом материале. Однако, в экспериментах *in vitro* обычно используются либо сепарированные из крови клеточные элементы, либо унифицированные культуры клеток. Такой подход, на мой взгляд, позволяет более детально охарактеризовать не только активность секреции гуморальных факторов, но и, в определенной мере, охарактеризовать клеточный источник продукции того или иного цитокина, а также чувствительность отдельных типов клеток к действию экспериментального фактора. В своей работе Иван Сергеевич использовал экспериментальный метод работы с цельной кровью. В качестве дискуссии прошу автора пояснить выбор данной методики. Очевидно, что соответствующий вклад в продукцию искомых факторов воспаления могут вносить разные типы иммунцитов. Поэтому без проведения параллельного анализа формулы крови становится более сложно оценить возможные клеточные источники синтеза цитокинов и оксипинов в ответ на экспериментальную стимуляцию.

2. Группа контрольных пациентов, критерии включения в нее описаны недостаточно подробно. В работе нет указаний на оценку у исследуемой когорты такого фактора риска бронхо-легочной патологии, как курение.

3. Из текста диссертации не вполне понятна позиция автора в отношении сродства N-ацилэтаноломинов ЖК (кроме анандамида) к каннабиноидным рецепторам. В некоторых рассуждениях говорится об отсутствии у них аффинности к СВ-рецепторам, в других местах указывается на конкурентные отношения за эти рецепторы. К слову сказать, автор не вполне корректно использует в тексте термин каннабиномиметики, в то время, как общеупотребимым является термин каннабимиметики.



## Заключение

Диссертационная работа Коваленко Ивана Сергеевича «Регуляция системной воспалительной реакции экзогенными этаноламинами жирных кислот при легкой бронхиальной астме», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология является самостоятельным, законченным научным исследованием, в котором детально охарактеризована и проанализирована специфика воспалительного ответа, изменений состава жирных кислот и их эндогенных метаболитов у пациентов с бронхиальной астмой легкой степени тяжести и получены новые убедительные данные о роли N-ацилэтаноламинов жирных кислот в регуляции системного воспаления. По актуальности темы, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842 (ред. от 16.10.2024 г.), а ее автор Коваленко Иван Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Доктор медицинских наук по специальности  
03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология,  
член-корреспондент РАН,  
ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии  
ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии  
им. А.В.Жирмунского» Дальневосточного отделения  
Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН).  
690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17  
Телефон +79046274078  
Адрес электронной почты - duval@mail.ru

Дюйзен Инесса Валерьевна

27.03.2025г.



подпись *Дюйзен*  
заверяю: начальник ОДО  
Буренина В.Л. *Б*