

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации **Рыжавского Бориса Яковлевича** о диссертационной работе Барсковой Людмилы Сергеевны на тему «Патофизиологические механизмы нарушения прооксидантно-антиоксидантных процессов в альвеолярных макрофагах крыс линии Вистар при воздействии твердых взвешенных частиц различной дисперсности», представленной к защите в объединенный совет по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 999.199.02 при ДНЦ ФПД и ФГБОУ ВО Амурской ГМА Минздрава России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

Высокая распространенность патологии дыхательной системы, в том числе экологозависимой, недостаточная эффективность их профилактики и лечения, обуславливают необходимость углубленного изучения механизмов ответной реакции этой системы на действие различных повреждающих агентов. Многочисленными исследованиями установлена важная роль активных форм кислорода (АФК) в развитии различных патологических процессов, в том числе, в органах дыхательной системы. При этом известно, что высокий уровень загрязнения окружающей среды, вдыхаемого воздуха инициирует и поддерживает дисбаланс прооксидантов и антиоксидантов, развитие оксидативного стресса, регистрируемого на субклеточном, клеточном, органном уровнях, а АФК, являются триггерами воспалительных процессов, в том числе, в различных отделах дыхательной системы. Известно, что твердые взвешенные частицы приземного слоя атмосферного воздуха, вызывающие

патологические процессы в легких, различаются как по химической природе, так и по размерам. Последнее обуславливает глубину их проникновения в воздухоносные пути и возможность попадания в легочные ацинусы а также способность проходить через клеточные мембраны, поступать в кровеносные сосуды. Эти факты обращают на себя внимание в связи с тем, что не только интенсивность, но и характер загрязненности атмосферного воздуха значительно различается как в разных регионах, так и в пределах одного населенного пункта, особенно – крупного промышленного центра. Поступающие в дыхательную систему твердые взвешенные частицы вызывают повреждение ее различных структур, инициируют развитие воспаления. Макрофаги являются важными участниками этого процесса, в значительной мере определяющими его течение, поскольку, будучи непосредственными участниками иммунных реакций, выступают также и в роли их регулятора. В легких они являются многочисленной клеточной популяцией, локализованной в интерстициальной ткани, стенках и просветах альвеол и воздухоносных путей. При этом вопрос о различиях реакции легочных макрофагов на частицы, имеющиеся во вдыхаемом воздухе и различающиеся как химическим составом, так и размерами, является недостаточно изученным.

Изложенные факты позволяют считать актуальным диссертационное исследование Барсковой Л.С., посвященное установлению патофизиологических механизмов нарушения прооксидантно-антиоксидантных процессов в макрофагах легких крыс при воздействии твердых взвешенных частиц различной дисперсности.

Научная новизна основных выводов и результатов

В выполненном Барсковой Л.С. исследовании впервые установлены особенности гранулометрического распределения твердых взвешенных частиц (ТВЧ) в приземном слое атмосферного воздуха различных по техногенной нагрузке территорий города Владивостока.

Впервые установлено, что усиление выработки АФК в альвеолярных макрофагах происходит в ответ на увеличение содержания фагоцитируемых

фракций ТВЧ. Впервые показана зависимость образования гидроперекисей липидов, малонового диальдегида, протеин карбонила и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина от дисперсного и качественного состава модельных взвесей.

Впервые доказано усиление влияния фракционного состава ТВЧ при увеличении в модельной взвеси количества мелкодисперсных частиц.

Впервые установлено, что повышение содержания тиоредоксина, оказывающего антиоксидантное действие при развитии окислительного стресса в альвеолярных макрофагах, обусловлено увеличением количества ТВЧ мелкодисперсных фракций, в наибольшей степени с размерностью от 1,0 до 2,5 мкм.

Впервые выделены индикаторы раннего токсического повреждения клеток при воздействии ТВЧ. При этом установлено, что протеин карбонил проявляет наибольший отклик на частицы в диапазоне фракции от 0,1 до 1,0 мкм, а 8-ОХДГ (8-гидрокси-2-деоксигуанозин) – от 2,5 до 10,0 мкм.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты рецензируемой работы Барсковой Л.С. имеют высокую теоретическую и практическую значимость. Автором получены данные, представляющие интерес для патологической физиологии, гистологии, состоящие в расширении, детализации и углублении информации о свойствах макрофагов, многочисленной популяции клеток соединительной ткани легких. *In vitro* показано, что модельные взвеси частиц, попадающих в органы дыхания, способны индуцировать выработку АФК, обуславливать окислительный стресс в альвеолярных макрофагах при увеличении содержания ТВЧ фагоцитируемых фракций. При этом детально описаны отличия реакций макрофагов при воздействии на них ТВЧ, отличающихся размерами и химическим составом. Эти данные дополняют имеющуюся информацию о свойствах макрофагов и их роли в развитии окислительного стресса.

Диссертантом изучена роль тиоредоксиновой системы в антиоксидантной защите альвеолярных макрофагов экспериментальных животных. Установлено значительное увеличение концентрации тиоредоксина, соединения,

обладающего антиоксидантными свойствами, участием в редокс-зависимой регуляции и предотвращении апоптотической гибели клеток при воздействии на клетку фагоцитируемых мелкодисперсных частиц.

В работе описаны ранние индикаторные критерии окислительного повреждения фагоцитирующих клеток органов дыхания при воздействии мелкодисперсных частиц атмосферного воздуха, установлено, что окислительную модификацию белков можно рассматривать как ранний и наиболее значимый индикатор повреждения клеток при воздействии на органы дыхания микрочастиц атмосферного воздуха.

Полученные Барсковой Л.С. результаты могут быть использованы при изучении причинно-следственных связей и механизмов формирования патологии легких в результате воздействием ТВЧ в условиях загрязнения атмосферного воздуха различных урбанизированных территорий. Они могут быть включены в курсы лекций по патологической физиологии и патологической анатомии, гигиене, гистологии. В практической медицине выявленные механизмы нарушения прооксидантно-антиоксидантных процессов в альвеолярных макрофагах могут быть использованы при разработке программ профилактики патологии, вызванной воздействием микрочастиц атмосферного воздуха.

Апробация разработанных положений диссертации в учебный процесс осуществлена на кафедре клеточной биологии и генетики Школы естественных наук ДВФУ. Во Владивостокском филиале ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ используются 3 методических документа с подробным описанием методологии экспериментального исследования воздействия микроразмерных частиц на альвеолярные макрофаги, метода отбора и анализа проб атмосферного воздуха, методики системного моделирования экологической зависимости заболеваний органов дыхания.

Достоверность полученных результатов. Оценка содержания диссертации, ее завершенности, замечания по оформлению работы

Рецензируемая работа базируется на известных концепциях, согласуется с имеющимися данными литературы по исследованной тематике. В ходе ее проведения соблюдены требования к репрезентативности набранного материала (достаточный объем, наличие группы сравнения), а методы исследования и статистической обработки современны и отвечают поставленным задачам. Все они детально описаны в работе, свидетельствуют о том, что исследования выполнены на современном сертифицированном оборудовании с использованием адекватных методик определения различных показателей СРО и антиокислительной активности. Научные положения диссертации, базирующиеся на полученном материале, учитывающие данные современной литературы, не вызывает сомнения. Выводы диссертации полностью обоснованы полученными результатами.

Диссертация Барсковой Л.С. оформлена в соответствии с требованиями ВАК. Она соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного логичного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, взаимосвязью выводов и поставленных задач. Работа построена по традиционному плану и включает в себя введение, основную часть (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение), выводы и список литературы. Работа представлена на 127 страницах машинописного текста и содержит 21 таблицу и 9 рисунков. Список литературы содержит 171 источник (47 публикаций отечественных и 124 публикации зарубежных авторов). При этом подавляющая часть источников – работы последних 15 лет. Хотя работа написана довольно лаконично, ее изучение дает четкое представление о логике исследования, связях его различных разделов.

Во введении обоснована актуальность исследования, представлены цели и задачи, направленные на установление особенностей реакции альвеолярных макрофагов крыс на воздействие ТВЧ различной дисперсности по состоянию окислительно-восстановительных процессов и выделение биоиндикаторов повреждения клеток. В этом разделе отражены научная новизна, теоретическая

и практическая значимость, сформулированы основные научные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы включает три подглавы. В первой описаны эпидемиологические данные о влиянии загрязнения атмосферного воздуха на здоровье населения, во второй дана характеристика ТВЧ, их свойства, обуславливающие их патогенные свойства, в третьей – описаны современные научные представления о роли альвеолярных макрофагов в элиминации из органов дыхания экзогенных поллютантов и тиолдисульфидной регуляции окислительно-восстановительного баланса клетки.

Глава *«Материалы и методы»* содержит подробное описание методов оценки загрязнения атмосферного воздуха, а также - экспериментальных исследований, в том числе получения бронхоальвеолярного лаважа, выделения культуры альвеолярных макрофагов, проведение нагрузки клеток модельными взвесями твердых микрочастиц, а также методов определения показателей прооксидантно-антиоксидантных процессов.

Для исследования воздействия ТВЧ выбраны альвеолярные макрофаги, клетки, ответственные за элиминацию микрочастиц окружающего воздуха и составляющие около 15 % от всех клеток межальвеолярных перегородок и 77-96 % клеток бронхоальвеолярной жидкости.

Для определения показателей окислительно-восстановительного баланса макрофагов подобраны адекватные методики исследования, осуществленные на высокоточном оборудовании. При этом следует подчеркнуть, что в диссертации исследовались показатели, отражающие интенсивность СРО различных соединений – липидов, белков, нуклеиновых кислот, а также – разные механизмы АОЗ. Выбор конкретных показателей обоснован данными литературы, при этом определение тиоредоксина для решения поставленных задач является новым направлением в данной области исследований.

В главе 3 *«Результаты исследований»* имеются четыре подраздела. В них подробно описаны полученные результаты, отраженные также в таблицах и рисунках. В первой подглаве диссертант описывает выявленные различия в

дисперсности частиц в районах г. Владивостока, отличающихся уровнем техногенного прессинга. На основании этих данных, в работе определены диапазоны размерности частиц, отличающихся по патофизиологическим механизмам воздействия на организм. Эти данные явились обоснованием для моделирования воздействия ТВЧ различных размеров в части работы, проведенной *in vitro*.

Вторая подглава посвящена оценке прооксидантных процессов, проходящих в альвеолярных макрофагах после нагрузки модельными взвесями. Для определения параметров окисления использованы гидроперекиси липидов, малоновый диальдегид, протеин карбонил и 8-гидрокси-2-деоксигуанозин. Полученные автором результаты свидетельствуют о значительной интенсификации процессов окисления в случае воздействия модельной взвеси с большей долей мелкодисперсных частиц.

В третьей подглаве описаны антиоксидантные защитные механизмы: общая АОА и тиолдисульфиды – глутатион и тиоредоксин. Представленные данные позволили прийти к заключению о значимой роли тиоредоксина в протекции альвеолярных макрофагов при воздействии фагоцитируемых мелкодисперсных твердых частиц.

В четвертой подглаве проведена оценка взаимоотношений между показателями окислительно-восстановительного баланса клетки и дисперсным и качественным составом модельных взвесей. Определение корреляционной зависимости клеточных параметров от диапазона размерности частиц и расчет интегрального отклика (Дв) позволили автору обозначить вклад состава воздействующих частиц в реакцию клетки и выявить наиболее значимые связи. Это также позволило решить задачу по выделению биоиндикаторов токсического повреждения клетки в результате воздействия мелкодисперсных фракций твердых частиц.

В «Заключении» обобщены результаты проведенных исследований, дана оценка полученных фактов. Содержание «Заключения» согласуется как с полученными в работе фактами, так и с определяющими концепциями

литературы, посвященной данной проблеме. В то же время, представляется, что автор могла бы сопоставить степень изменений липидов, белков, нуклеиновых кислот, происходящих под влиянием частиц разной размерности в макрофагах и культуральной среде, а также – рассмотреть вопрос о взаимодействиях продуктов, образовавшихся при воздействии ТВЧ и последствиях этих воздействий.

Выводы диссертации (5) соответствуют поставленным цели, задачам и полностью базируются на результатах выполненного исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты и выводы диссертации могут быть использованы при подготовке научно-педагогических кадров в аспирантуре по профилям «патологическая физиология», «гигиена», «экология», «гистология», включены в курсы лекций для студентов медицинских и биологических вузов, использоваться в работе научно-исследовательских лабораторий, занимающихся изучением цитологических и молекулярных механизмов развития экологозависимых заболеваний.

Автореферат диссертации соответствует требованиям ВАК и отражает основные положения диссертации.

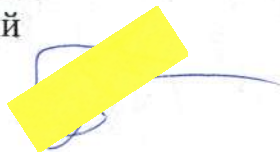
Заключение

Таким образом, диссертация Барсковой Людмилы Сергеевны «Патофизиологические механизмы нарушения прооксидантно-антиоксидантных процессов в альвеолярных макрофагах крыс линии Вистар при воздействии твердых взвешенных частиц различной дисперсности», является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, направленной на изучение молекулярных механизмов развития окислительного стресса в альвеолярных макрофагах после воздействия содержащихся во вдыхаемом атмосферном воздухе твердых микрочастиц, имеющей существенное значение для развития патологической физиологии, что соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным п. 9 Положения о присуждении ученых

степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями, внесенными Постановлениями Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018 и № 751 от 26.05.2020), а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология,

Официальный оппонент

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой гистологии,
эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО
«Дальневосточный государственный
медицинский университет»
Минздрава РФ



Б.Я. Рыжавский

«23» марта 2021 г.

Адрес: 680030, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35

Тел: 8(4212)32-63-93; 76-13-73

Эл.почта: nauka@mail.fesmu.ru; k_gist@mail.fesmu.ru

Сайт: <http://www.fesmu.ru>

Подпись

д-ра мед. наук, профессора Б.Я. Рыжавского
заверяю начальник отдела кадров



Е.А. Шишмакова

«23» марта 2021 г.