

**ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Постоваловой Екатерины Андреевны**  
**на тему «Морфофункциональные изменения иммунной системы при**  
**экспериментальном язвенном колите»,**  
**по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология,**  
**гистология»**

**Актуальность темы диссертационного исследования**

Диссертационная работа Постоваловой Екатерины Андреевны посвящена актуальной проблеме – изучению морфофункциональных изменений органов иммунной системы при экспериментальном язвенном колите, индуцированном декстрансульфатом натрия. В последнее время, как во всем мире, так и в России, заболеваемость язвенным колитом прогрессирующе увеличивается. Известно, что при воспалительных заболеваниях кишечника, таких как язвенный колит и болезнь Крона, повышается риск развития колоректального рака. Однако этиология язвенного колита и механизмы развития, включающие иммунные нарушения, изучены недостаточно, и терапия этого заболевания не всегда эффективна.

В развитии язвенного колита ключевую роль играет иммунная система. Показано, что при язвенном колите иммунный ответ поляризован преимущественно по клеточному типу, а повышение числа регуляторных Т-лимфоцитов оказывает противовоспалительное и иммуносупрессорное действие. Роль иммунной системы и, в частности, регуляторных Т-лимфоцитов в развитии воспалительных заболеваний и язвенного колита в настоящее время интенсивно изучается, но большинство работ ограничивается оценкой содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови. В литературе отсутствуют данные о морфофункциональных изменениях тимуса и вторичных лимфоидных органов в комплексе с анализом субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови при остром и хроническом язвенном колите разной тяжести и в разные сроки развития. В клинике проведение подобных

исследований затруднено в связи с невозможностью одновременного изучения морфологических изменений органов иммунной системы и воспалительных и иммунных нарушений в очаге воспаления – толстой кишке. Поэтому необходимо проведение экспериментальных исследований на репрезентативных группах животных, что позволит установить морфофункциональные изменения органов иммунной системы при язвенном колите, индуцированном декстрансульфатом натрия. Выбранная диссертантом среди многих известных в литературе модель язвенного колита является воспроизводимой и наиболее адекватной для изучения острого язвенного колита, а также хронизации воспалительного процесса.

Актуальность темы не вызывает сомнений, так как исследование морфологических изменений в тимусе, периферических органах иммунной системы – селезенке, брыжеечных лимфатических узлах в комплексе с анализом изменения Т-лимфоцитов в крови при остром и хроническом язвенном колите позволит выявить общие закономерности развития воспалительных заболеваний кишечника и разработать новые подходы к их эффективной профилактике и терапии.

### **Научная новизна полученных результатов**

В работе впервые на экспериментальной модели острого и хронического язвенного колита проведено изучение морфофункциональных изменений лимфоидных органов – центрального тимуса и периферических – селезенки и лимфатических узлов с одновременной оценкой субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови и особенностями воспалительного процесса в толстой кишке. Это впервые позволило автору охарактеризовать развивающиеся при язвенном колите формы вторичного иммунодефицита не только по данным оценки периферической крови, но и морфологическим изменениям основных лимфоидных органов.

Автором впервые показано, что развитие острого катарального-язвенного колита протекает на фоне умеренно выраженных реактивных



морфологических изменений в органах иммунной системы – острой акцидентальной инволюции тимуса с уменьшением числа Т-лимфоцитов и увеличением дендритных клеток в нем, а также гиперплазии и синусными реакциями лимфатических узлов, что отражает транзиторное вторичное иммунодефицитное состояние.

Высокие концентрации декстрансульфата натрия приводят к развитию тяжелой формы острого язвенного колита, сопровождающегося синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, обширным язвенным процессом, отложением масс фибрина, скоплениями лейкоцитов на поверхности язв и фибриноидным некрозом стенок сосудов. В работе впервые показано, что при остром фибринозно-язвенном колите развивается декомпенсированный вторичный иммунодефицит, который характеризуется выраженной острой акцидентальной инволюцией тимуса, гибелью Т- и В-лимфоцитов, гиперплазией эпителиальных клеток мозгового вещества. При этом во вторичных лимфоидных органах наблюдается резкая редукция белой пульпы селезенки; гиперплазия и синусные реакции лимфатических узлов, нарушения баланса субпопуляций лимфоцитов с повышением количества иммуносупрессорных регуляторных Т-лимфоцитов.

Установлено, что хронический язвенный колит в разные сроки своего развития сопровождается компенсированным вторичным иммунодефицитом, при котором наблюдается гиперплазия коркового вещества и мозговых эпителиальных клеток в тимусе; а в селезенке и лимфатических узлах – гиперплазия ПАЛМ-зоны и функциональных зон.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Диссертационная работа Постоваловой Е.А. имеет большую научно-практическую значимость. Полученные автором экспериментальные данные о развитии транзиторного, декомпенсированного и компенсированного вторичных иммунодефицитных состояний при остром язвенном колите разной тяжести и при хроническом колите в разные сроки развития всесторонне обосновывают точку зрения о том, что в патогенезе язвенного

колита ключевую роль играют иммунные механизмы. Разработанные модели вторичного иммунодефицита при язвенном колите могут быть использованы для доклинических исследований иммуностропных фармакологических препаратов с целью разработки новых подходов к терапии и профилактике воспалительных заболеваний кишечника у человека.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций**

Степень достоверности результатов подтверждается четкостью и обоснованностью протоколов исследования, достаточным количеством экспериментальных животных и числом наблюдений в группах, а также адекватными группами сравнения. Для решения поставленных задач автор использовал комплекс современных методов, в том числе иммуногистохимические и культуральные, проточную цитофлуориметрию. Статистический анализ полученных результатов проведен с применением целесообразных методов обработки информации и статистики. Все сформулированные задачи решены, полученные результаты обсуждены и проанализированы с учетом данных современной литературы. Научные положения, выводы и рекомендации логично вытекают из результатов исследования и их обсуждения. Результаты исследования опубликованы в центральных рецензируемых журналах.

**Личное участие автора** заключалось в планировании и проведении исследования, моделировании острого язвенного колита разной тяжести и разных сроков развития хронического язвенного колита. Автором самостоятельно проведено морфологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование, полученные результаты статистически обработаны, полученных результатов обобщены и проанализированы.

### **Общая оценка диссертационной работы**

Структура диссертации традиционная. Работа написана великолепным языком и в ясном научном стиле, легко читается, охватывает практически все аспекты проблемы, собственные данные иллюстрированы достаточным



количеством микрофотографий высокого качества, рисунков и таблиц.

Обзор литературы имеет четкую внутреннюю структуру, облегчающую восприятие изложенной информации. В нем отражены современные представления о морфологии и функциях центральных и периферических органов иммунной системы, а также охарактеризована роль иммунной системы в патогенезе язвенного колита.

В главе «Материалы и методы» достаточно подробно описан дизайн исследования, примененные автором подходы к выделению клеток из различных органов, современные методики исследования *in vitro*, которые включают иммуногистохимическое исследование гистологических срезов с помощью иммунопероксидазного метода, цитофлуориметрический анализ антигенного фенотипа лимфоидных и нелимфоидных клеток, морфометрический анализ.

В главе «Результаты» в модельных экспериментах охарактеризованы особенности воспалительного процесса в толстой кишке при язвенном колите и выявлены сопутствующие данной патологии морфофункциональные изменения органов иммунной системы. Хотелось бы отметить уникальность этого исследования по широте охвата проблемы – автором проведена комплексная оценка состояния иммунной системы с использованием трех различных моделей язвенного колита, включающая в себя данные о морфофункциональных изменениях центрального лимфоидного органа – тимуса, периферических органов – селезенки и лимфатических узлов, а также толстой кишки с одновременной оценкой субпопуляционного состава лимфоцитов в указанных органах и в периферической крови. и особенностями воспалительного процесса в толстой кишке.

Полученные данные корректно статистически обработаны. Анализ полученных результатов и сделанные на его основе обобщения приведены в разделе «Обсуждение».

Работа соответствует формуле специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, задачи исследования адекватны поставленной цели, выводы полностью отвечают задачам диссертации и доказательно обосновываются ее материалами. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

Апробация работы проведена на ряде научных конференциях и конгрессах в России, и за рубежом. Основные результаты исследования опубликованы в 5 статьях, из них 3 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и индексируемые в базах данных Web of Science и Scopus.

В процессе рецензирования диссертационной работы были выявлены некоторые недостатки.

Работа прекрасно иллюстрирована графическим материалом, представляющем собой окрашенные срезы различных тканей, представленных множеством гетерогенных морфологических зон и структур, индексация которых на фотографиях отсутствует. Введение обозначений морфологических структур существенным образом облегчило бы восприятие результатов исследования.

Графики содержат громоздкое текстовое сопровождение, содержащее информацию о достоверности различий между группами. Использование общепринятых символов для обозначения достоверно различающихся групп в данном случае сделало бы графическое представление результатов более наглядным.

Автором получены яркие результаты с помощью трехцветного окрашивания и последующего анализа Т-регуляторных клеток методом проточной цитометрии. Однако в разделе «Материалы и методы» отсутствует описание особенностей установки окон дискриминации (гейтов) при фенотипировании этого типа клеток, что позволило бы автору подчеркнуть высокий методический уровень работы и дать четкое определение параметра «содержание регуляторных Т клеток в субпопуляции



CD4<sup>+</sup> лимфоцитов», который в дальнейшем был использован для характеристики состава лимфоцитов и приводится в большом количестве таблиц и графиков.

В работе имеются опечатки и отдельные стилистические погрешности.

Представленные замечания не носят принципиального характера и ни в коей мере не отражаются на положительной оценке работы.

Есть лишь несколько вопросов в порядке дискуссии.

Автором проведена оценка субпопуляционного состава лимфоцитов, полученных из ободочной кишки в группах мышей с катарально-язвенным фибринозно-язвенным колитом, при которых степень поражения тканей существенно отличалась - относительная длина язв составляла 11% и 65%, соответственно. Учитывалась ли различия в степени выраженности язвенных поражений в тех образцах ободочной кишки, которые использовались для анализа субпопуляционного состава лимфоцитов?

В работе выявлено существенное повышение содержания Т-регуляторных клеток в ободочной кишке при всех формах язвенного колита – катарально-язвенном, фибринозно-язвенном и хроническом. Имеются ли данные о механизмах повышения содержания этого типа клеток – является увеличение следствием миграции тимических Т-регуляторных клеток из периферической крови, или происходит локальная индукция дифференцировки и пролиферации клеток?

### **Заключение**


Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Е.А. Постоваловой «Морфофункциональные изменения иммунной системы при экспериментальном язвенном колите» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология» (по биологическим наукам), а

также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Постовалова Екатерина Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология».

**Официальный оппонент:**

доктор биологических наук  
ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России,  
Николаева Марина Аркадьевна



08.10.2018

**Контактные данные:**

тел.: + 7 (495) 438-11-83, e-mail: nikolaeva\_ma@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация:

14.00.36 – аллергология и иммунология,

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

**Адрес места работы:**

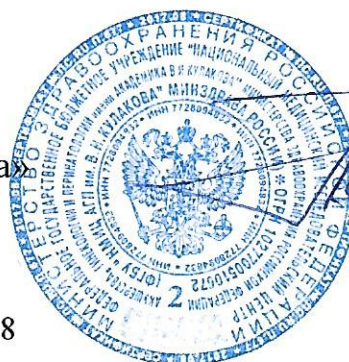
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д.4

ФГБУ «Национальный медицинский  
исследовательский центр акушерства, гинекологии  
и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»  
министерства здравоохранения РФ,  
лаборатории клинической иммунологии

Тел.: + 7 (495) 438-11-83

e-mail: secretariat@oparina4.ru

Подпись М.А. Николаевой заверяю  
Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»  
Минздрава России,  
кандидат медицинских наук, доцент



С.В. Павлович

08.10.2018