

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.014.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 28.09.2021 г. №9

О присуждении Алексееву Владимиру Вячеславовичу, гражданину России, учёной степени доктора медицинских наук.

Диссертация "Развитие реакции гуморальных и клеточных факторов врожденного иммунитета на острую соматическую боль в онтогенезе у крыс" по специальности: 1.5.5. Физиология человека и животных принята к защите 23.06.2021 г., протокол №7, диссертационным советом 21.2.014.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063, Краснодар, ул. Седина, 4) в соответствии с приказом Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки Министерства образования и науки Российской Федерации от 07.12.2007 г. №2397-1749 и приказом Минобрнауки России от 11.04.2012 г. №105/нк, признанным соответствующим Положению о совете по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук.

Алексеев Владимир Вячеславович, 1975 года рождения. Диссертацию на соискание учёной степени кандидата медицинских наук "Онтогенетические аспекты изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой соматической боли различной интенсивности (экспериментальное исследование)" защитил в 2008 году в диссертационном совете, созданном на базе Ростовского государственного медицинского университета. Работает доцентом кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Ростовский

государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре общей и клинической патологической физиологии.

Научные консультанты:

– доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической патологической физиологии, заведующий кафедрой;

– доктор медицинских наук, профессор Быков Илья Михайлович, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фундаментальной и клинической биохимии, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

1. Сашенков Сергей Львович (гражданин России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Южно-Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной физиологии имени академика Ю.М. Захарова, заведующий кафедрой;

2. Бобынцев Игорь Иванович (гражданин России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Курский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии, заведующий кафедрой;

3. Михайличенко Вячеслав Юрьевич (гражданин России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского", кафедра общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, заведующий кафедрой – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина", г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Абрамовой Анастасией Юрьевной, доктором медицинских наук, заведующей лабораторией системных механизмов эмоционального стресса, указала, что "диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой..., соответствует требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней"..., а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных".

Соискатель имеет 118 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 53 работы, из них в рецензируемых научных изданиях и приравненных к ним опубликовано 29 работ. Краткая характеристика работ (вид, количество, объем в страницах, авторский вклад соискателя в %): статьи в журналах – 33, 155, 79; материалы и тезисы конференций – 18, 35, 89; патенты – 2, 13, 80. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Алексеев, В.В. Особенности реакции некоторых компонентов врожденного иммунитета у новорожденных и взрослых животных после болевого воздействия / В.В. Алексеев // Российский журнал боли. – 2018. – № 2(56). – С. 5-6.

2. Алексеев, В.В. Функциональная и корреляционная зависимость между показателями метаболической активности нейтрофилов и α -дефенинов у животных различных возрастных групп в динамике острой соматической боли / В.В. Алексеев, А.Х. Каде // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2020. – Т. 64, № 2. – С. 21-29.

3. The effect of acute somatic pain on the killing activity of neutrophils in newborn rats / V.V. Alekseev, A.Kh. Kade // Bulletin of RSMU. – 2020. – № 1. – P. 61-66.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: Лытаева Сергея Александровича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой нормальной физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации; Колпакова Виктора Васильевича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой нормальной физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Тюменский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации; Голубева Виктора Николаевича, доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры нормальной физиологии федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова" Министерства обороны Российской Федерации и Брина Вадима Борисовича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой нормальной физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Северо-Осетинская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзывы критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается широкой известностью специалистов, являющихся признанными учеными

данной отрасли медицины, что подтверждается наличием соответствующих научных публикаций, размещенных на сайте: [http:// www.ksma.ru](http://www.ksma.ru).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработано** новое научное направление, обогащающее научную концепцию превентивной активации факторов врожденного иммунитета в онтогенезе у крыс в ответ на острую кратковременную соматическую боль; **предложена** оригинальная схема вовлечения факторов врожденного иммунитета при острой соматической боли; **доказано** наличие закономерностей проявлений реакций факторов врожденного иммунитета при острой соматической боли у животных разных возрастных групп; **введено** новое понятие о феномене "превентивной активации факторов врожденного иммунитета", как реакции готовности к последующему развертыванию адекватного иммунного ответа.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: **доказаны** положения, расширяющие представления об особенностях функционального состояния факторов врожденного иммунитета в возрастном аспекте у интактных животных и об активации факторов врожденного иммунитета под влиянием раздражителей неантигенной природы, в частности, острой соматической боли; **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс экспериментальных, лабораторных и статистических методов исследования; **изложены** доказательства эффективности предложенной модели формирования острой соматической боли; **раскрыты** существенные проявления феномена "превентивной активации факторов врожденного иммунитета" в ответ на острую соматическую боль в онтогенезе у животных; **изучены** причинно-следственные связи и онтогенетические особенности вовлечения факторов врожденного иммунитета при острой соматической боли; **проведена модернизация** методологического подхода к изучению особенностей функционального состояния факторов врожденного иммунитета в возрастном аспекте в ответ на острую соматическую боль.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: **разработан и внедрен** комплекс новых универсальных подходов к изучению вовлечения факторов врожденного иммунитета при острой соматической боли; **определены** перспективы дальнейшего использования предложенных методов комплексной оценки факторов врожденного иммунитета в практическом здравоохранении; **создана** модель комплексной оценки факторов врожденного иммунитета в ответ на острую кратковременную соматическую боль у особей в онтогенетическом аспекте; **представлены** предложения по дальнейшей разработке изучаемого научного направления.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: **для экспериментальных работ** результаты получены с использованием достаточного количества экспериментов на сертифицированном оборудовании, структура исследования соответствует поставленным задачам; **теория** построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации; **идея** обоснована данными анализа полученных результатов и согласуется с опубликованными ранее данными по теме диссертации; **использованы** сравнения авторских данных с полученными ранее по рассматриваемой тематике; **установлено** качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике; **использованы** современные методики сбора и обработки полученной информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и проведении всех этапов исследования, участии в получении исходных данных и научных экспериментах, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и вопросы:

1. Почему для исследования выбран именно такой набор цитокинов?

2. Какие теоретические предпосылки послужили основанием для постановки экспериментов на животных данных 5 возрастных групп и определения ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИФН- γ и ФНО- α в сыворотке крови?

3. В тексте диссертации не указано соответствие выполненных экспериментов этическим стандартам. Соблюдались ли при работе с животными данные требования и как осуществлялся их контроль?

4. Почему в качестве объекта исследования были выбраны именно белые беспородные крысы, а не породистые или линейные?

5. Как вы считаете, изменение реакции на локальный болевой раздражитель с возрастом связан с изменением функционирования иммунной и нервной системы или обучение организма новому раздражителю?

6. На ваш взгляд, с чем связан подъем и снижение изучаемых показателей в течение 180 минут после болевого воздействия?

7. По вашим данным, какой все-таки гуморальный или клеточный иммунитет играет большую роль в ответе на соматическую боль?

8. Могло ли использование местной анестезии оказывать влияние на исследуемые показатели у половозрелых животных?

9. Известно, что при стрессе происходит усиленная выработка так называемых DAMP (дэмедж-ассоциированных молекулярных паттернов), которые по своему влиянию на иммунные реакции сопоставимы с влиянием патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP). Может ли усиленная продукция ряда цитокинов при острой соматической боли у млекопитающих быть обусловлена только активацией симпатoadреналовой системы при повреждении ткани или есть вероятность включения в механизм этих изменений последствий, вызванных выделением DAMP?

Соискатель Алексеев В.В. убедительно ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, согласился со всеми замечаниями и привел собственную аргументацию по следующим:

1. Боль и повреждение в истории живого идут параллельно, только болевой сигнал как правило возникает первым, а затем уже формируется воспаление, если организм остается жизнеспособным. Именно это обстоятельство определяет целевую задачу нашего исследования: может ли боль как таковая вызывать изменения цитокиновой регуляции, направленной на формирование воспаления как неспецифической формы защиты. ИЛ-1 представляет интерес как регулятор врожденного иммунитета. Он привлекает нейтрофилы, повышает их фагоцитарную активность; обеспечивает проницаемость сосудистой стенки, что содействует выходу фагоцитов в зону повреждения, повышает цитотоксическую и бактерицидную активность лейкоцитов. ИЛ-2 повторяет многие эффекты ИЛ-1 и является следствием его активирующего действия на клетки продуценты. ИЛ-2 стимулирует выработку собственных молекул ауто- и паракринным путем; повышает цитотоксичность Т-клеток, усиливает реакции фагоцитоза и микробицидность самих фагоцитов. Стимулирует выработку провоспалительных цитокинов макрофагами, вызывает пролиферацию В-лимфоцитов. ФНО- α "один из наиболее ярких провоспалительных цитокинов" был выявлен его прямой цитотоксический эффект на мутантные клетки, он активирует апоптоз раковых и других клеток, является эндогенным пирогеном. Этот цитокин осуществляет запуск биосинтеза белков острой фазы воспаления гепатоцитами, активирует систему прокоагуляции, повышает проницаемость капилляров, повреждает эндотелий сосудов, активирует систему комплемента. ИЛ-4 ограничивает синтез макрофагами провоспалительных ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО- α , образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота. Мы рассматриваем участие ИЛ-6 в механизмах врожденного иммунитета в ответ на острое болевое раздражение на том основании, что этот интерлейкин обеспечивает продукцию белков острой фазы печени, СРБ даже рассматривают как маркер ИЛ-6. Кроме того, он через систему других цитокинов обеспечивает хемотоксические влияния и адгезивность. ИЛ-6 интересен тем, что в зависимости от ряда факторов, как-то дозы, динамики и интенсивности процесса и т.д. может

выступать и в той, и в другой роли. При стимуляции цитокиновой активности последовательно секретируются ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 ИЛ-6 дублирует эффекты ФНО- α , ИЛ-1 и в этом смысле он провоспалительный цитокин. По мере развертывания воспаления ИЛ-6 подавляет активность первых двух и в этом смысле он противовоспалительный. ИЛ-10 обладает способностью подавлять иммунное воспаление и является важнейшим регулятором цитокинов, во многом определяющим направленность иммунных реакций. ИНФ- γ – универсальный иммуномодулятор, повышающий адгезивную, цитотоксическую, фагоцитарную активность клеток, оказывающий антипролиферативный, противовирусный эффект. С этих позиций для нас представляют несомненный интерес цитокины с хорошо изученными свойствами и отлаженной технологией их идентификации, а именно провоспалительные: ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИНФ- γ , а также противовоспалительные ИЛ-6, ИЛ-4 и ИЛ-10. Перечисленные провоспалительные цитокины объективно препятствуют росту и развитию микроорганизмов и способствуют их разрушению.

2. В основу периодизации возраста крыс нами взяты материалы научного исследования О.А. Гелашвили (2010). Автор исследовала морфологию и функцию тканей и органов крыс в онтогенезе и проведенные ею параллели с возрастом человека. Мы исходили из того, что в онтогенезе крысы очевиден период грудного вскармливания до 2-х недель, период прозрения в 2 недели, период развития и достижения месячного возраста, когда ткани и органы уже в основном сформированы, однако их функция весьма лабильна. Исходя из того, что крыса живет примерно 2 года, а после года жизни у крысы наблюдается выраженное снижение генеративной функции, то мы, возраст старше 12 месяцев обозначили как старость, а промежуток, в течение которого сохраняется генеративная функция – возрастом зрелости. Хотелось бы подчеркнуть, что нас интересовали особенности реагирования факторов врожденного иммунитета в зависимости от изменения функционального состояния объекта исследования.

3. Наши исследования были одобрены локальными этическими комитетами Ростовского государственного медицинского университета и Кубанского государственного медицинского университета. В ходе проводимых экспериментов мы соблюдали утвержденные Европейской конвенцией правила этики о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. В частности, мы в своих исследованиях осуществляли возрастной подбор электростимуляции и уменьшили количество животных в экспериментальных сериях, в соответствии с основными постулатами, принятыми на Европейской конвенции.

4. Белые беспородные крысы были выбраны в целях проведения исследований на разнообразном генетическом материале, но в рамках одного вида животных.

5. Основываясь на данных литературы и собственных наблюдениях, можно с уверенностью утверждать, что с возрастом происходит постепенная дифференцировка нервной и иммунной систем, они меняются и приспосабливаются к окружающей среде. Мы не проводили тренировок животных на болевой раздражитель так как это не входило в рамки нашего исследования. Таким образом на основании наших исследований мы можем утверждать, что изменение реакции на локальный болевой раздражитель с возрастом, связано с увеличением адаптационных возможностей иммунной и нервной систем.

6. Увеличение таких показателей как лизоцим, α -дефензины, кислородзависимая микробицидность нейтрофилов связано со стимуляцией нейтрофилов симпатoadреналовой системой. Увеличение С-реактивного белка обусловлено каскадной стимуляцией гепатоцитов вследствие выброса ИЛ-1 и ИЛ-6. Уменьшение С3 компонента комплемента мы связываем с усилением его гидролитического расщепления на С3а и С3b фрагменты калликреин-кининовой системой, запускаемой адреналином. Так же в литературе имеются данные, что на активированных нейтрофилах есть рецепторы к С3 компоненту комплемента, его связывающие.

7. На основании наших исследований мы можем сделать вывод, что превалирование ответной реакции на острую боль факторов клеточного или гуморального иммунитета зависят от возраста. У новорожденных преобладает повышение активности тех факторов, которые в основном продуцируются нейтрофилами, а также кислородзависимых механизмов бактерицидности самих нейтрофилов. Но уже у взрослых животных мы наблюдаем достаточно равномерное увеличение всех изучаемых факторов, что показывает единый и взаимосвязанный всплеск активности факторов врожденного иммунитета, демонстрируя формирование превентивной готовности к отражению возможной антигенной атаки.

8. Существует достаточно работ, посвященных супрессивному влиянию анестетиков на реакции иммунной системы, однако большинство работ посвящено общей анестезии. Что касается местной анестезии, то результаты здесь не столь однозначны. Есть сведения о влиянии на местный иммунитет, что касается влияния на системный иммунитет, то таких данных в изученной литературе мы не обнаружили. Поэтому для проведения контрольных экспериментов мы и использовали местный анестетик – лидокаин. А результаты этих исследований показывают отсутствие статистически значимых изменений в исследуемых группах.


9. С нашей точки зрения одно не исключает другого, стрессор может стимулировать, как активацию симпатoadреналовой системы и усиливать продукцию цитокинов, так и выход дэмедж-ассоциированных молекулярных паттернов (DAMP) из клетки и увеличивать образование провоспалительных цитокинов. Кроме этого, на основании данных, представленных в работах М.Г. Фрэнка, М.Д. Вебера с соавторами можно предположить, что боль как стресс-фактор через выброс глюкокортикоидов может стимулировать выход DAMP (HMGB1) во внеклеточное пространство и опосредованно через цитокины вызывать активацию факторов врожденного иммунитета.

На заседании 28.09.2021 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно

квалифицировать как формирование нового научного направления, имеющего важное значение для развития физиологии – изучение особенностей превентивной активации факторов врожденного иммунитета в онтогенезе в ответ на острую кратковременную соматическую боль, – присудить Алексееву В.В. ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации – 1.5.5. Физиология человека и животных, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – 1.

Врио председателя
диссертационного совета 21.2.014.01,
доктор медицинских наук
профессор


Дурлештер
Владимир Моисеевич

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.014.01,
доктор медицинских наук
профессор



Гуменюк
Сергей Евгеньевич

28.09.2021 г.