



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ**  
«Федеральный исследовательский центр  
«Красноярский научный центр  
Сибирского отделения  
Российской академии наук»  
(КНЦ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН)

Академгородок, 50,  
г. Красноярск, 660036, Россия  
тел.: +7 (391)243-45-12, факс: +7 (391)290-53-78  
e-mail: [fic@ksc.krasn.ru](mailto:fic@ksc.krasn.ru), <http://ksc.krasn.ru>  
ОКПО 05239177, ОГРН 1022402133698  
ИНН/КПП 2463002263/246301001

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального  
Государственного бюджетного  
научного учреждения  
«Федеральный исследовательский  
центр «Красноярский научный  
Центр Сибирского отделения  
Российской академии наук»



Член-корреспондент РАН  
А.А. Шпедт

от 20.11.2023 № 883  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» - обособленного подразделения Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера о научно-практической значимости диссертации Семенова Альберта Геннадьевича на тему «Цитогенетическая нестабильность, нарушение баланса пролиферации и апоптоза лимфоцитов у больных иксодовым клещевым боррелиозом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.3.3. Патологическая физиология

### Актуальность темы исследования

Иксодовый клещевой боррелиоз является наиболее распространенным природно-очаговым инфекционным заболеванием с трансмиссивным механизмом передачи. В последние годы интерес исследователей направлен на изучение эпидемиологии иксодового клещевого боррелиоза, геновидового разнообразия патогенных спирохет, особенностей клинической картины заболевания. Вопросам патогенеза уделяется гораздо меньше внимания, а фундаментальные исследования, раскрывающие механизмы развития иммунопатологических реакций в организме при различных клинико-патогенетических вариантах боррелиозной инфекции, крайне немногочисленны и посвящены в основном изучению особенностей гуморального иммунитета. Известно, что кооперативное взаимодействие антигенпредставляющих клеток и лимфоцитов, опосредованное цитокинами, обеспечивает накопление специфических Т-лимфоцитов-хелперов, обеспечивающих образование необходимого пула плазматических клеток, синтезирующих антитела к антигенам боррелий. При этом структурно-функциональная

дезорганизация иммунокомпетентных клеток (моноцитов, макрофагов, лимфоцитов) на фоне инфекционно-зависимого воспаления, может стать причиной хронического течения инфекции, сопровождающегося длительным внутриклеточным персистированием боррелий, например, в клетках системы мононуклеарных фагоцитов.

Вышеизложенное определяет актуальность темы рецензируемого исследования, направленного на выявление особенностей, общих закономерностей и механизмов карิโอпатологических изменений, цитогенетических нарушений, дисбаланса пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов у пациентов с острым и хроническим иксодовым клещевым боррелиозом, а также на оценку влияния патогенных боррелий непосредственно на иммунные клетки в культуре *in vitro*.

### **Новизна исследования и полученных выводов, сформулированных в диссертации**

В своей работе Семенов А.Г., используя рутинные и дифференциальные методы окраски хромосом, обнаружил морфологические признаки цитогенетической нестабильности лимфоцитов крови при боррелиозной инфекции и впервые подробно охарактеризовал различные типы карิโอпатологических изменений и хромосомных нарушений в клетках у больных острым и хроническим иксодовым клещевым боррелиозом. Автор установил, что независимо от варианта течения заболевания (острое или хроническое) у пациентов в среднем в 5,7 раза повышается общее количество лимфоцитов с цитогенетическими нарушениями, а именно, со структурными aberrациями хромосом (разрывы и фрагменты). При этом клетки с измененным количеством хромосом, а именно с полиплоидией, чаще выявлялись при хроническом течении инфекции, чем при остром. При анализе препаратов метафазных хромосом у пациентов в острый период боррелиозной инфекции впервые был выявлен aberrантный кариотип с увеличением прицентромерного района 9 пары гомологичных хромосом.

При анализе пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов, в том числе с использованием метода проточной цитофлуориметрии, Семенов А.Г. впервые установил, что усиление пролиферации лимфоцитов в острый период заболевания сочетается с активацией их апоптоза, тогда как при хроническом течении инфекции апоптотическая активность лимфоцитов снижена, но высокая антиген-индуцированная пролиферативная активность клеток сохраняется. Автор считает, что выявленные изменения следует рассматривать как один из патогенетических факторов хронизации боррелиозной инфекции, принимая во внимание также и то, что изменения пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов сопровождались усилением выработки провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6.

Приоритетными, по мнению автора, являются данные о влиянии боррелий *B. garinii* на лимфоциты человека в культуре *in vitro*, выражающемся в дозозависимой индукции апоптоза, хромосомных aberrаций и нарушении нормального хода митоза. Семенов А.Г. обнаружил, что добавление *B. garinii* в культуру лимфоцитов способствует

формированию кариопатологических изменений и цитогенетических нарушений, аналогичных таковым в лимфоцитах крови больных в остром периоде инфекции.

В целом, представленная на отзыв диссертационная работа отличается научной новизной и удовлетворяет критериям фундаментальных исследований.

### **Значимость результатов диссертации для науки и практики**

Полученные Семеновым А.Г. результаты, несомненно, расширяют сложившиеся представления об иммунопатогенезе иксодового клещевого боррелиоза. Новые данные о характере нарушений цитогенетического статуса, пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов крови, которые автор определяет, как патогенетические факторы боррелиозной инфекции, могут быть использованы для разработки подходов к коррекции структурно-функционального статуса иммуноцитов, в том числе для профилактики хронизации заболевания. Принимая во внимание современную эпидемиологическую ситуацию в отношении боррелиоза, а также широкое геновидовое разнообразие штаммов патогенных спирохет, автор подчеркивает актуальность дальнейшего изучения особенностей иммунопатогенеза боррелиоза в зависимости от природы инфицирующего штамма спирохет. Это может оказаться применимым для разработки способов дифференциальной диагностики, а также прогнозирования неблагоприятного течения и исходов заболевания.

Научная и практическая значимость полученных А.Г. Семеновым результатов, выводов и положений, выносимых на защиту, не вызывают сомнений. Основные научные положения и выводы диссертации Семенова Альберта Геннадьевича используются в ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в учебном процессе в разделах лекций, семинарских и практических занятий по патофизиологии, микробиологии, инфекционным болезням и эпидемиологии.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов и сформулированных выводов**

Предложенный автором дизайн исследования обоснован и позволяет корректно решать поставленные в работе задачи. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинико-лабораторного материала, использованием современных методов исследований и оборудования, корректным выполнением статистического анализа полученных данных.

В процессе выполнения работы было проведено обследование 43 пациентов с манифестной формой иксодового клещевого боррелиоза с острым и хроническим течением. Контрольную группу составили 23 здоровых добровольца. Исследования были проведены на первичной культуре мононуклеарных лейкоцитов, выделенных методом градиентного центрифугирования из венозной крови. При выполнении исследования использованы методы рутинной и дифференциальной окраски хромосом (техники G- и C-бэндов), иммуноферментный анализ для определения концентрации цитокинов в

культуральной среде, стандартный морфологический метод оценки реакции бластной трансформации лимфоцитов в комплексе с методами лазерной проточной цитометрии для количественного определения лимфоцитов, находящихся на разных этапах клеточного цикла, а также клеток в состоянии апоптоза. Для оценки цитогенетического статуса, кариопатологических изменений, апоптотической и пролиферативной активностей лимфоцитов осуществляли культивирование клеток в разных условиях – без и с добавлением фитогемагглютинаина либо корпускулярного боррелиозного антигена. В процессе исследования из образцов крови здоровых доноров были подготовлены дополнительные серии клеточных суспензий для экспериментального изучения влияния разных концентраций живых боррелий вида *B. garinii* на цитогенетический статус и активность апоптоза лимфоцитов крови в условиях *in vitro*.

Статистический анализ полученных результатов выполнен корректно.

Личный вклад А.Г. Семенова в проведении исследования не вызывает сомнений. Результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на конференциях (региональных, всероссийских, международных). По теме диссертации опубликованы 32 научные работы, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 6 статей в рецензируемых журналах, индексируемых базами данных RSCI, Scopus, РИНЦ.

### **Структура диссертации**

Диссертационная работа А.Г. Семенова изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов и списка использованной литературы, включающего 224 источника (67 отечественных, 157 зарубежных). Работа иллюстрирована 14 таблицами и 12 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, степень ее разработанности, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора. Цель исследования сформулирована корректно и мотивированно вытекает из современного состояния проблемы, которая объективно отражена в обзоре литературы. Задачи соответствуют поставленной цели, что формирует представление о работе как о целостном законченном исследовании.

В главе «Обзор литературы» изложены современные сведения, касающиеся иммунопатогенеза острой и хронической боррелиозной инфекции, освещены механизмы нарушения баланса пролиферации и апоптоза мононуклеарных лейкоцитов при инфекциях, а также охарактеризованы феномен и механизмы цитогенетической нестабильности при бактериальных инфекциях. Обзор литературы в полной мере отражает состояние проблемы и обосновывает целесообразность выполнения диссертационной работы.

Глава «Материал и методы исследования» представлена несколькими подглавами с общей характеристикой обследованных пациентов, описанием материала и методов исследования, методов статистического анализа результатов.

Глава «Результаты исследования» состоит из нескольких подразделов, в которых приводится подробное описание полученных в работе результатов. Полученный фактический материал подвергнут адекватной статистической обработке.

В четвертой главе приведен анализ, обобщение результатов и их обсуждение с привлечением данных литературы. Результаты изложены грамотно, полно и последовательно. Автор приводит итоговую схему взаимодействия факторов, определяющих цитогенетическую нестабильность, нарушение процессов пролиферации и апоптоза лимфоцитов периферической крови, а также их роль в механизмах врожденного и адаптивного противоборрелиозного иммунного ответа при остром и хроническом течении иксодового клещевого боррелиоза.

Выводы и основные положения сформулированы лаконично, соответствуют поставленным цели и задачам, отражают содержание диссертационной работы.

Автореферат составлен в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р. 7.0.11-2011. Содержание автореферата достаточно полно раскрывает сущность проблемы и отражает основные разделы и положения диссертации.

По результатам оценки настоящей диссертационной работы принципиальных замечаний нет. В плане дискуссии хотелось бы получить ответы диссертанта на следующие вопросы:

1. При выполнении экспериментов с клеточными культурами в качестве индукторов функциональной активности мононуклеарных лейкоцитов Вы использовали классический митоген фитогемагглютинин и корпускулярный боррелиозный антиген. Чем был обусловлен выбор этих антигенов, и каковы различия в механизмах их действия на клетки?
2. Выявленные каріопатологические изменения и цитогенетические нарушения связаны только с определенными фракциями лимфоцитов, непосредственно участвующих в иммунном ответе при боррелиозной инфекции, или затрагивают общую популяцию лимфоцитов крови у больных?
3. Как Вы считаете, повышение активности пролиферативного ответа лимфоцитов на БАГ у пациентов с боррелиозной инфекцией связано с увеличением доли специфических Т-лимфоцитов в крови в ответ на инфекцию или может определяться регуляторными механизмами, в частности, изменением уровней цитокинов в крови на фоне развития иммунного ответа?

### **Заключение**

Диссертация Семенова Альберта Геннадьевича на тему «Цитогенетическая нестабильность, нарушение баланса пролиферации и апоптоза лимфоцитов у больных иксодовым клещевым боррелиозом», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология,

является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по установлению закономерностей кариопатологических изменений и нарушений цитогенетического статуса, апоптотической и пролиферативной активностей лимфоцитов крови у больных иксодовым клещевым боррелиозом для разработки подходов к профилактике его хронизации, имеющей существенное значение для развития патологической физиологии.

Работа отвечает критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Отзыв обсужден и одобрен на межлабораторном заседании научных сотрудников Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» от 17 ноября 2023 г. (протокол №7)

Руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», доктор медицинских наук, профессор

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ  
*Савченко*  
 Руководитель  
 группы кадров  
 20 ноября 2023 г.  
 О. И. Сусарова

Савченко Андрей Анатольевич

Директор Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», доктор медицинских наук, профессор

20 ноября 2023 г.

Каспаров Эдуард Вильямович

#### **Сведения об организации:**

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук». 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. Тел./факс: (391) 228-06-83. E-mail: [imprn@imprn.ru](mailto:imprn@imprn.ru)