

ОТЗЫВ

официального оппонента, д.б.н. **Замориной Светланы Анатольевны** о диссертационной работе Соколовой Ксении Викторовны на тему «Патофизиологические механизмы макрофагальной регуляции образования внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете второго типа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы исследования. Сахарный диабет 2 типа (СД2) является заболеванием лиц преимущественно трудоспособного возраста, приводящее к инвалидизации населения. СД2 (инсулиннезависимый диабет) — метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, развивающейся в результате нарушения взаимодействия инсулина с клетками тканей (ВОЗ, 1999 год). Очевидно, что изучение патофизиологических механизмов, приводящих к развитию этого заболевания, является актуальным вопросом современной науки. Резистентность к инсулину снижает секреторные возможности β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, что приводит к гипергликемии и развитию диабета. В последнее время стало известно, что дисфункция β -клеток при СД2 может быть частично компенсирована образованием новых инсулин-продуцирующих клеток (инсулин-позитивные клетки, ИПК), расположенных вне островков Лангерганса. Механизмы и условия, способствующие образованию внеостровковых ИПК, до конца не известны, морфофункциональная характеристика внеостровковых ИПК в условиях СД2 отсутствует. Однако факты говорят о том, что при увеличении количества внеостровковых ИПК наблюдается нормализация гипергликемии при диабете [Tang D.-Q. et al., 2004; Xin Y. et al., 2016]. Макрофагам, локализованным в поджелудочной железе, принадлежит центральная роль как в поддержании воспалительной реакции, так и в регуляции регенерации. Основными факторами, обеспечивающими эти два процесса, являются цитокины, локально выделяемые клетками моноцитарно-макрофагального ряда в очаг повреждения [Gusdon A.M., Corbett J.A., Mathews C.E., 2006]. Таким образом, диссертант поставил перед собой сложную задачу по изучению и оценке внеостровковых ИПК поджелудочной железы в ассоциации с макрофагальными клетками. Для обоснования этого взаимодействия приводятся убедительные доказательства со стороны литературных данных, более того, высказывается предположение, что внеостровковые ИПК являются частью диффузной эндокринной системы, значение и функции которой в норме и при патологии пока не известны. Целью работы являлось выявление патофизиологических механизмов макрофагальной регуляции образования внеостровковых ИПК поджелудочной железы при

экспериментальном СД2. Таким образом, данную работу можно охарактеризовать как актуальную и решающую сложные научные задачи в рамках современной патофизиологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Для реализации поставленных задач исследования и обоснования основных положений диссертантом был использован теоретический анализ литературы, как отечественной, так и зарубежной, современные лабораторные методы исследования (эксперименты *in vivo*, постановка экспериментов на модели с животными, иммуногистохимические исследования, биохимические и иммунологические методы) и методы статистической обработки данных с использованием программ Origin Pro 9.0, графическое представление данных – в GraphPad Prism 7.0.

По итогам проведенного исследования сформулировано 4 положения, выносимых на защиту, в которых суммированы основные результаты, а также 6 конкретных выводов. Научные положения и выводы, представленные в диссертации, аргументированы и достоверны. Выводы диссертации закономерно вытекают из основных положений, защищаемых автором, имеют научное и практическое значение. Практические рекомендации (3) изложены четко, конкретно и могут служить руководством для работников здравоохранения и научных учреждений.

Основные положения и результаты диссертационной работы были апробированы на ряде научно-практических конференциях регионального, федерального и международного уровней.

Таким образом, диссертационная работа К.В. Соколовой является законченным научным исследованием, основанным на достаточном экспериментальном материале с применением современных методов исследования.

Достоверность и новизна полученных результатов.

Достаточное количество экспериментального материала, в том числе количество животных (*n*) в экспериментальных группах и в группе сравнения, обеспечивает достоверность результатов данного исследования. Диссертант проводил моделирование СД2 на модели с использованием крыс Вистар, результаты экспериментов оценивались с использованием современных, апробированных методов и сертифицированных тест-систем для лабораторных исследований, а также применением современных компьютерных программ для статистического анализа данных. Выбор адекватных поставленным задачам методов исследования, достаточный объем выборки, использование современных методов статистической обработки материала, воспроизводимость результатов и не противоречие их данным, представленным в независимых источниках другими авторами, подтверждают

корректность сделанных в ходе работы выводов. Научные положения и выводы, резюмирующие работу, соответствуют заявленной цели и задачам.

Проведенное исследование, несомненно, имеет научную новизну. Теоретическое обоснование экспериментов следует из анализа большого объема современной научной литературы по исследуемому вопросу, что обосновывает направление исследования.

В результате проведенных исследований диссертант впервые охарактеризовал субпопуляции ИПК в составе ацинусов и в эпителии протоков поджелудочной железы крыс с точки зрения их количества, размеров и функциональной активности, в норме и при развитии экспериментального СД2. В частности, установлена локализация внеостровковых ИПК – большая часть идентифицированы в ацинусах железы, тогда как в эпителии протоков их количество было существенно ниже.

Диссертант впервые продемонстрировал влияние макрофагов на содержание Pdx1-позитивных клеток в составе ацинусов и в эпителии протоков поджелудочной железы. Так, показано, что при снижении количества макрофагов в микроокружении (вследствие экспериментальной терапии аминофталгидразидом натрия) наблюдается увеличение количества Pdx1-позитивных клеток в паренхиме неэндокринной части железы, а также растет содержание TGF- β 1 в ткани железы. В совокупности это приводит к увеличению уровня ИПК в эпителии ацинусов и протоков железы, и увеличению секреции инсулина.

В результате проведенных исследований также впервые продемонстрировано влияние макрофагов на количество клеток в составе ацинусов и в эпителии протоков поджелудочной железы, экспрессирующих рецептор к фактору стволовой клетки, в условиях экспериментального СД2.

Значимость для науки и практики результатов диссертации.

Прежде всего стоит отметить, что изучение патофизиологических механизмов, приводящих к развитию этого заболевания, является актуальным вопросом современной науки. Полученные диссертантом результаты носят, прежде всего, фундаментальный характер. В частности, получены новые данные об ИПК поджелудочной железы в ассоциации с функциями макрофагов. В результате проведенных исследований автор показал, что развитие СД2 сопровождается снижением числа ацинарных и протоковых ИПК, невзирая на присутствие макрофагов в микроокружении. В то же время экспериментальная терапия аминофталгидразидом натрия (мишенью которого являются именно макрофаги) ведет к снижению макрофагальной инфильтрации поджелудочной железы в целом, что способствует повышению количества внеостровковых ИПК и усилению их функциональной активности. Помимо этого, диссертант показал взаимосвязь макрофагов и внеостровковых ИПК через белок Pdx1, контролирующей генерацию ИПК, а

также через управление секреции TGF- β 1, ключевого провоспалительного цитокина. В целом, проведенное исследование создает теоретическую основу для разработки методов стимулирования образования и функциональной активности ИПК путем изменения функциональной активности макрофагов. Результаты исследования в перспективе могут быть использованы при разработке новых способов терапии инсулин-дефицитных состояний. Предложенные диссертантом практические рекомендации могут представлять ценность для ученых, специализирующихся в области как фундаментальных, так и практических исследований, т.к. предлагают при изучении инсулинопродуцирующей системы организма учитывать наличие ИПК в паренхиме поджелудочной железы, а при разработке способов профилактики и терапии СД2 – зависимость ИПК от макрофагов и положительный эффект аминафталгидразида натрия на ИПК.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. 5 работ опубликовано в изданиях, индексируемых в Scopus, 4 – в Web of Science.

Оценка содержания работы. Диссертация изложена на 160 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы по исследуемому вопросу, описания экспериментальных животных и методики эксперимента, 4 глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 304 источника, среди которых 48 русскоязычных и 256 англоязычных. Работа содержит 18 таблиц и 8 рисунков.

Обзор литературы представляет собой подробный анализ влияния макрофагов на внеостровковые инсулин-позитивные клетки поджелудочной железы. Даны характеристики ИПК, структура поджелудочной железы, описана гистологическая и функциональная пластичность панкреоцитов, показана роль макрофагов в развитии СД2, а также влияние цитокинов на процессы развития СД2. Диссертант соблюдает баланс между использованием российских и зарубежных авторов. В главе «Материалы и методы» диссертант подробно обосновывает выбор используемой в работе экспериментальной модели СД2. Приведена характеристика лабораторных животных и методов исследования. Глава 3 посвящена описанию внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы. Описание дано в динамике (в условиях физиологической нормы и развития СД2 разной продолжительности), что несомненно важно с точки зрения патологической физиологии, так как позволяет использовать для оценки патологического состояния точку отсчёта. В главе 4 представлены результаты исследования содержания и функциональной активности макрофагов в неэндокринной части поджелудочной железы при экспериментальном СД2 и при воздействии аминафталгидразидом натрия. Глава 5

содержит в себе полученные данные о содержании и функциях ИПК при экспериментальном СД2 и при экспериментальной терапии. Интересно отмеченное автором увеличение количества внеостровковых ИПК и их функциональной активности при воздействии аминофталгидразида натрия. В главе 6 проанализированы отдельные механизмы макрофагальной регуляции образования и функционирования внеостровковых ИПК поджелудочной железы. Изложение полученных данных завершается заключением, выводами и практическими рекомендациями. В заключении представлена интегральная схема патофизиологических механизмов макрофагальной регуляции образования и функционирования внеостровковых ИПК. Схема понятна для восприятия, не перегружена лишними элементами, раскрывает суть заключений, сделанных автором по результатам работы. В конце каждой экспериментальной главы представлен список опубликованных по конкретным результатам печатных работ.

Диссертация написана доступным языком, грамотно оформлена, хорошо иллюстрирована таблицами и рисунками. Автореферат в полной мере отражает суть проведенного исследования. Замечаний к оформлению работы нет.

Принципиальных замечаний к работе не имею, однако по мере прочтения возникли следующие вопросы:

1) Могли бы Вы пояснить выбор аминофталгидразида натрия с точки зрения того, каким именно образом он регулирует функциональную активность макрофагов, каков молекулярный механизм его действия? Может ли он регулировать другие процессы в организме, воздействовать на другие клетки? Есть ли в мире аналоги подобного препарата? Видите ли Вы в нем фармакологические перспективы?

2) В силу каких причин Вы не воспользовались мультиплексным анализом для оценки цитокинового профиля, а предпочли отдельные наборы для иммуоферментного определения отдельных цитокинов?

3) Как Вы считаете, подтверждают ли Ваши данные гипотезу о том, что внеостровковые инсулин-позитивные клетки являются частью диффузной эндокринной системы, значение и функции которой пока не известны?

Возникшие вопросы имеют дискуссионный характер и несколько не снижают общего весьма позитивного впечатления о диссертационном исследовании К.В. Соколовой

Заключение. Диссертация Соколовой Ксении Викторовны «Патофизиологические механизмы макрофагальной регуляции образования внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете второго типа» является законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой,

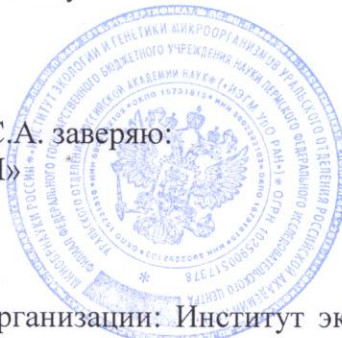
имеющей существенное значение для специальности 14.03.03 – патологическая физиология, так как в ней проанализированы отдельные механизмы воздействия макрофагов на образование и функциональную активность внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете второго типа, а также раскрыты особенности реагирования данного типа клеток на развитие экспериментального диабета второго типа.

По актуальности, научной новизне и практической значимости, диссертация полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент
д.б.н., ведущий научный сотрудник
лаборатории экологической иммунологии
«ИЭГМ УрО РАН»

С.А. Заморина

Подпись д.б.н. Замориной С.А. заверяю:
Директор «ИЭГМ УрО РАН»
д.м.н., профессор



С.В. Гейн

Организация, адрес организации: Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН») – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН). 614081, Пермский край, г. Пермь, ул. Голева, д. 13, тел. 8 (342) 280-74-42.

Адрес электронной почты secretary@iegm.ru, mantissa7@iegm.ru. Официальный сайт <http://www.iegm.ru>.

Отзыв официального оппонента поступил «27» мая 2021 г.
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02

И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «27» мая 2021 г.
Соискатель

К.В. Соколова