



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ
И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени В.И. Вернадского»
(ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»)
проспект Академика Вернадского, 4
г. Симферополь, 295007
Тел.: +7(3652) 54-50-36; факс: 54-52-46
E-mail: cf_university@mail.ru
http://www.cfuv.ru

"УТВЕРЖДАЮ"

Ректор
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный
университет имени В.И. Вернадского»

А.П. Фалалеев

2021 г.



№ _____
от _____

На № _____

О Т З Ы В

ведущей организации о научно-практической ценности диссертации Соколовой Ксении Викторовны «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 диссертации

Исследование вопросов, связанных с регенерацией поджелудочной железы, является одним из приоритетных направлений патологической физиологии. Научные работы последних лет показывают, что развивающаяся при сахарном диабете второго типа дисфункция островковых бета-клеток, сопровождающаяся снижением продукции инсулина, отчасти, может быть компенсирована путём образования новых инсулин-продуцирующих клеток, в частности, вне островков Лангерганса. Макрофаги оказывают существенный вклад в регуляцию как образования, так и гибели островковых инсулин-продуцирующих клеток железы, поэтому постановка вопроса о механизмах их влияния на внеостровковые инсулин-позитивные клетки поджелудочной железы вполне обоснована.

Таким образом, исследования Соколовой К.В., в которых рассматриваются механизмы макрофагальной регуляции образования и активности инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы, являются актуальными, а выводы носят фундаментальный характер и расширяют взгляды на инсулин-продуцирующую систему поджелудочной железы не только как на совокупность островковых бета-

клеток, но и расположенных вне островков инсулин-позитивных клеток, функция которых и вклад в продукцию инсулина пока не ясны.

Связь с планами соответствующих отраслей наук

Работа выполнялась в рамках бюджетной темы Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (№ государственной регистрации АААА-А18-118020590107-0) и договора с Федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» Минобрнауки РФ (в соответствии с грантом РНФ 16-15-00039-П). Работа поддержана грантами РНФ (№ 16-15-00039 и 16-15-00039-П).

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения и выводы диссертации обоснованы достаточным количеством объектов исследования (работа выполнена на 126 белых крысах линии Вистар). Автором применены современные биохимические, гистологические и иммуногистохимические, иммуноферментные методы исследования, адекватные поставленной цели и решаемым задачам, позволяющие выявить механизмы макрофагальной регуляции образования и функциональной активности инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы. Статистический анализ данных выполнен в пакетах программ Microsoft Office Excel 2007 и Origin Pro 9.0. Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия для сравнения трёх и более независимых групп (критерий Краскела-Уоллиса).

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 160 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы по исследуемому вопросу, описания экспериментальных животных и методики эксперимента, четырёх 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.

Во введении к работе автор четко обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель исследования и задачи, поставленные для ее реализации, а также положения, выносимые на защиту. В литературном обзоре подробно освещено современное состояние вопроса трансдифференцировки панкреоцитов в инсулин-продуцирующие клетки под влиянием различных факторов и вопросы, касающиеся роли макрофагов в гибели и пролиферации островковых инсулин-продуцирующих клеток поджелудочной железы.

В главе «Материалы и методы» приведён методологический аппарат, использованный для решения поставленных задач. Применение автором современных методов исследования обеспечило надежность полученных результатов.

Главы с третьей по шестую содержат результаты собственных исследований. В главе 3 содержится подробная характеристика внеостровковых инсулин-позитивных клеток железы в норме и при развитии экспериментального сахарного диабета второго типа, включающая описание количества, размеров, локализации и функциональной активности данного типа клеток. В главе 4 рассмотрено и проанализировано количество макрофагов и содержание отдельных цитокинов в крови и ткани поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете и при воздействии на макрофаги веществом, изменяющим функциональную активность макрофагов – аминофталгидразидом натрия. Глава 5 посвящена изучению и оценке изменений морфо-функциональных характеристик внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при воздействии аминофталгидразида натрия. В главе 6 анализируются возможные пути воздействия макрофагов на образование и активность внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы.

Работу завершает общее заключение, в котором систематизированы полученные результаты, приведена обобщающая схема и выводы, логично вытекающие из всего содержания диссертации.

Результаты исследований К.В. Соколовой прошли апробацию на российских и международных научно-практических конференциях и отражены в 15 публикациях, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Большинство работ опубликовано в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах: 5 – в Scopus, 4 – в Web of Science, 3 – в Pubmed, 7 – в РИНЦ.

Научная новизна исследования

В диссертационной работе Соколовой К.В. приведено подробное описание инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы, расположенных вне островков – в составе ацинусов железы и в эпителии протоков, в условиях физиологической нормы, при развитии патологического состояния (экспериментального сахарного диабета второго типа) и при изменении активности макрофагов аминофталгидразидом натрия.

Соколовой К.В. впервые продемонстрировано, что внеостровковые инсулин-позитивные клетки по-разному реагируют на развитие сахарного диабета второго типа в зависимости от их локализации в паренхиме железы. Модуляция макрофагальной активности у крыс с сахарным диабетом второго типа аминофталгидразидом натрия приводит к увеличению количества и функциональной активности внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы.

Впервые проанализировано влияние активности макрофагального звена на количество с-kit-позитивных клеток в неэндокринной части поджелудочной железы в условиях физиологической нормы, при развитии экспериментального диабета второго типа и при воздействии аминофталгидразида натрия.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов

Полученные Соколовой К.В. результаты носят фундаментальный характер и расширяют взгляды как на инсулин-продуцирующую систему организма, так и на роль макрофагов в регуляции образования и функционирования инсулиноцитов поджелудочной железы.

Автором продемонстрировано, что количество макрофагов в поджелудочной железе и их продукция влияют на количество и функциональную активность внеостровковых инсулин-позитивных клеток.

Выявлено, что макрофагальная регуляция образования и активности внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы осуществляется путём воздействия макрофагов на экспрессию транскрипционного фактора Pdx1 ацинарными и протоковыми клетками железы и на содержание ростового фактора TGF-бета 1 в ткани железы.

Соответствие специальности «патологическая физиология»

Отраженные в диссертации Соколовой Ксении Викторовны научные положения соответствуют следующим областям исследования паспорта научной специальности 14.03.03 – патологическая физиология: исследование особенностей этиологических факторов, обуславливающих их патогенное воздействие на организм, и характера взаимодействия этих факторов с рецепторными системами организма; анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических механизмов; разработка новых путей саногенетической терапии с учетом взаимодействия терапевтических факторов с защитно-приспособительными механизмами организма.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационного исследования Соколовой К.В. могут быть использованы в научно-исследовательских разработках, связанных с изучением инсулинпродуцирующей системы организма. Их также следует учитывать при разработке новых способов профилактики и бета-клеточной заместительной терапии сахарного диабета второго типа. Кроме того, полученные в ходе выполнения диссертационной работы Соколовой К.В. данные рекомендуются для использования в педагогическом процессе по дисциплинам «Физиология человека и животных», «Патологическая физиология», «Гистология».

Личный вклад автора

Постановка научной проблемы и формулировка рабочей гипотезы, разработка дизайна эксперимента, анализ и интерпретация полученных результатов проводились совместно с научным руководителем, доктором биологических наук, доцентом И.Г. Даниловой. Автор самостоятельно проводил поиск и анализ литературы по теме

исследования, осуществлял забор биологического материала для исследований, получал и статистически обрабатывал первичные данные, занимался написанием и оформлением рукописи диссертации. Результаты исследования в виде публикаций в научных периодических изданиях и докладов на конференциях представлены совместно с соавторами.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки РФ и отражает цель, задачи, методы исследования, основное содержание работы, выводы и практические рекомендации, изложенные в диссертации.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В качестве основного замечания по диссертационной работе можно выделить излишне подробное обоснование выбранной модели в «Материалах и методах», хотя более логично это обоснование было бы представить в обзоре литературы. Кроме того, в «Материалах и методах» нет указания на срок исследования – 60 суток, хотя в тексте и в описании результатов он присутствует. Все вышеперечисленные замечания не носят принципиального характера.

Кроме того, хотелось бы узнать мнение автора по нескольким вопросам, возникшим в ходе ознакомления с работой.

1. Сахарный диабет 2 типа без ожирения – не совсем классический вариант диабета 2 типа, ведь основной процент (до 95 %) СД 2 типа – это именно на фоне ожирения и инсулинорезистентности, и лишь небольшой процент (3-5 %) – это СД у пожилых пациентов без ожирения. Почему выбрана именно эта модель, воспроизводящая редкий вариант СД 2 типа?

2. Насколько корректно судить о наличии инсулинорезистентности при данной модели СД, основываясь только на расчете НОМА по уровню глюкозы и инсулина, секреция которого снижается со временем вследствие гибели бета-клеток из-за токсического действия стрептозоцина? Если нет ожирения как основного механизма развития инсулинорезистентности, то и повышение индекса НОМА в данном случае не совсем отражает реальное состояние углеводного обмена.

3. В работе выводы делаются на основании уровня инсулина в крови. Однако более точно судить о состоянии секреции инсулина можно по С-пептиду, который наиболее реально отражает ситуацию, так как молекула инсулина очень неустойчива и может разрушаться. Почему не определялся С-пептид?

4. Чем обусловлено повышение более чем в 10 раз TNF α в крови при СД+АФГ в срок 60 суток по сравнению с контролем, при том, что в поджелудочной содержании TNF α снизилось?

Заключение

Диссертация Ксении Викторовны Соколовой «Патофизиологические механизмы макрофагальной регуляции образования внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете второго типа», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, является самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой, на основании проведенных автором исследований, решена важная для специальности «патологическая физиология» задача, направленная на выявление механизмов макрофагальной регуляции внеостровковых инсулин-позитивных клеток поджелудочной железы при сахарном диабете второго типа.

Новые научные результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для биологической и медицинской науки и открывают дальнейшие перспективы изучения регуляции функциональной пластичности клеток поджелудочной железы. Таким образом, работа отвечает критериям 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 соискатель Соколова К.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, протокол № 6 от «20» мая 2021 г.

Заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии
 Медицинской академии им. С.И. Георгиевского
 ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет
 имени В.И. Вернадского» Минобрнауки РФ,
 доктор медицинских наук, профессор

Анатолий Владимирович Кубышкин

Подтверждаю
 Секретарь
 Крымского федерального университета
 имени В.И. Вернадского
А.В. Кубышкин
 20 мая 2021 г.

295007 Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4;
 Контактный телефон: +7 (3652) 54-50-36, +7 (3652) 54-52-46; Адрес электронной
 почты: cf_university@mail.ru; Адрес в сети Интернет: <https://cfueu.ru>

Отзыв ведущей организации поступил 28.05.2021 года
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02

И.А. Тузанкина

С отзывом ведущей организации ознакомлена 28.05.2021 года
Соискатель

К.В. Соколова