

ОТЗЫВ официального оппонента,

доктора биологических наук Даниловой Ирины Георгиевны на диссертационную работу Гилевой Ольги Георгиевны на тему «Содержание неколлагеновых белков межклеточного матрикса и их коррекция при экспериментальном метаболическом синдроме и иммобилизационном стрессе», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки)

Актуальность темы исследования

Широкая распространённость метаболического синдрома и неуклонно увеличивающееся количество больных по всему миру обуславливают актуальность изучения патогенеза данного заболевания и необходимость поиска новых подходов к его лечению и профилактике. Метаболический синдром значительно увеличивает риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа, инсульта, неалкогольного стеатоза, репродуктивных расстройств. Высокий рост затрат на лечение отдельных проявлений метаболического синдрома ложится тяжелым экономическим бременем на национальную систему здравоохранения. Несмотря на достаточно широкий спектр работ, направленных на изучение механизмов развития данного синдрома, роль нарушений соединительной ткани, а именно белков внеклеточного матрикса изучена недостаточно. Основное внимание исследования направлено на изучение типов коллагена, эластина, механизмов нарушения их синтеза и фолдинга. Между тем ряд адгезивных белков экстрацеллюлярного матрикса, среди которых можно выделить фибронектин и ламинин влияют на процессы регенерации тканей и созревание коллагена, поддержания гомеостаза внеклеточного матрикса процессы фагоцитоза, воспаления, регуляции межклеточных взаимодействий. Цель диссертационного исследования: изучить изменения в содержании основных неколлагеновых белков межклеточного матрикса – фибронектина и ламинина – при экспериментальном метаболическом синдроме, иммобилизационном стрессе, их сочетаниях, а также на фоне введения сулодексида.

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

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, применены современные лабораторные методы

исследования (эксперименты *in vivo*, постановка экспериментов на модели с животными, широкий спектр биохимических исследований, а также иммуноферментные методы исследования) и методы статистической обработки данных с использованием «Statistica 8.0». Достоверность отличий полученных результатов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для двух независимых групп и Краскела-Уоллиса для сравнения трех или более выборок. Взаимосвязь изучаемых показателей оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

По итогам проведенного исследования сформулировано 3 положения, выносимых на защиту, в которых суммированы основные результаты, а также 5 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 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 конференций регионального, федерального и международного уровней.

Таким образом, диссертационная работа О.Г. Гилевой 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 в экспериментальных группах и в группе контроля, обеспечивает достоверность результатов данного исследования. Диссертант проводил моделирование метаболического синдрома с использованием белых беспородных крыс-самцов, результаты экспериментов оценивались с использованием современных, апробированных методов и сертифицированных тест-систем для лабораторных исследований, а также с 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.

Диссертант впервые определил в крови и печени содержание ламинина и фибронектина –основных белков соединительной ткани в процессе развития экспериментального метаболического синдрома, при иммобилизационном стрессе и при их одновременном воздействии. Так, показано, что уровень этих белков в печени увеличивается во всех экспериментальных группах. Впервые было показано, что при введении препарата сулодексид нормализует показатели липидного и углеводного обмена в обеих моделях экспериментального метаболического обмена. Также установлено, что препарат уменьшает содержание фибронектина и ламинина в ткани печени и крови экспериментальных животных с метаболическим синдромом.

Значимость для науки и практики результатов диссертации

Прежде всего следует отметить, что изучение состояния соединительной ткани, а именно ее неколлагеновых белков при развитии метаболического синдрома является актуальным вопросом современной науки. Полученные диссертантом результаты носят, прежде всего, фундаментальный характер. В частности, получены новые данные о содержании адгезивных белков внеклеточного матрикса соединительной ткани при экспериментальном моделировании метаболического синдрома, иммобилизационном стрессе, их сочетании. Показана возможность коррекции метаболического синдрома и снижения уровня ламинина и фибронектина при введении препарата сулодексид. В целом, проведенное исследование создает теоретическую основу для разработки методов диагностики белков межклеточного матрикса при метаболическом синдроме. Неколлагеновые белки, уникальные по строению и функциям, могут использоваться в качестве маркеров альтерации гепатоцитов, развития стеатогепатита и фиброза печени. Результаты исследования в перспективе могут быть использованы при разработке новых способов терапии метаболического синдрома. Предложенные диссертантом практические рекомендации могут представлять ценность для ученых, специализирующихся в области как фундаментальных, так и практических исследований, т.к. предлагают использовать определение содержания белков (ламинина, фибронектина) для оценки риска возникновения осложнений метаболического синдрома. Также показано перспективность применения препарата при коррекции метаболического синдрома.

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 3 работы опубликовано в изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science.

Оценка содержания работы

Диссертация изложена на 170 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы по исследуемому вопросу, описания экспериментальных животных и методики эксперимента, главы с результатами и обсуждением собственных исследований, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 240 источников, среди которых 157 русскоязычных и 83 англоязычных. Работа содержит 31 таблицу и 38 рисунков.

Обзор литературы представляет собой подробную характеристику структуры, биохимического состава, биологической роли межклеточного матрикса соединительной ткани. Приведено детальное описание экспериментальных моделей метаболического синдрома, в котором диссертант подробно обосновывает выбор используемых в работе экспериментальных моделей. Подробно описывается состав и механизм действия препарата сулодексид.

В главе **«Материалы и методы»** приведена характеристика лабораторных животных и методов исследования. Следует отметить высокое качество гистологических препаратов. Однако в контексте работы данные гистологического анализа никак не учитываются при обсуждении особенностей развития метаболического синдрома в разных экспериментальных моделях. К сожалению, нет гистологического анализа при проведении исследований с препаратом сулодексид.

Глава 3 посвящена описанию результатов собственных исследований и их обсуждению. Несомненным достоинством работы является верификации, используемых экспериментальных моделей метаболического синдрома на основе высокожировой и фруктозообогащенной диеты. Фактически диссертантом доказана состоятельность данных моделей. Рассчитаны индексы инсулинорезистентности, исследованы основные показатели углеводного и липидного обмена, проведены гистологические исследования печени и определена активность органоспецифических ферментов печени. В качестве замечания можно указать, недостаточное увеличение веса экспериментальных животных. Однако, возможно, данный факт связан с выбором животных (у крыс сложно сформировать метаболический синдром) и коротким сроком для формирования патологии. Однако, учитывая изменения липидного профиля крови можно считать незначительное увеличение

веса животных с экспериментальным метаболическим несущественным обстоятельством. Следует отметить, что сама модель иммобилизационного стресса имеет хорошую доказательную базу с определением концентрации кортикостерона в крови и массы надпочечников. Однако в описании результатов нет единообразия - это касается описания показателей углеводного обмена. Определение содержания фибронектина и ламинина в печени и крови определено во всех экспериментальных группах. Очень подробно и качественно описаны результаты эксперимента, доказывающие изменения липидных и углеводных показателей крови при коррекции метаболического синдрома препаратом сулодексид. Считаю, что автор должен был привести таблицу с индексами корреляции. Данный материал логично было бы поместить в приложение к работе.

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 препарата сулодексид с точки зрения того, каким именно образом он регулирует содержание белков фибронектина и ламинина каков молекулярный механизм его действия? Есть ли в мире аналоги подобного препарата? Видите ли Вы в нем фармакологические перспективы?

2) В силу каких причин Вы не использовали препарат сулодексид при сочетанном воздействии метаболического синдрома и иммобилизационного стресса?

3) Как Вы считаете, подтверждают ли Ваши данные гипотезу о том, что стрессорное воздействие усиливает тяжесть течения метаболического синдрома?

Возникшие вопросы имеют дискуссионный характер и несколько не снижают общего весьма позитивного впечатления о диссертационном исследовании Гилевой О.Г.

Заключение

Диссертация Гилевой Ольги Георгиевны «Содержание неколлагеновых белков межклеточного матрикса и их коррекция при экспериментальном метаболическом синдроме и иммобилизационном стрессе» является законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, имеющей существенное значение для биологической науки, так как в ней проанализированы отдельные биохимические характеристики развития метаболического синдрома и иммобилизационного стресса и их сочетанного воздействия, а также раскрыты особенности реагирования адгезивных белков ламинина и фибронектина соединительной ткани в крови и печени при указанных видах экспериментального воздействия.

По актуальности, научной новизне и практической значимости, диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки).

Официальный оппонент, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией морфологии и биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, доктор биологических наук (специальность 0.300.13 – физиология (биологические науки))



Ирина Георгиевна Данилова

« 2 » март 2023 года

620049; г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106
тел. 8 (343) 374-00-70, email: ig-danilova@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук («ИИФ УрО РАН») 620049; г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106, тел. 8 (343) 374-00-70. Адрес электронной почты: v.chernocova@iip.uran.ru; ig-danilova@yandex.ru Официальный сайт iip.uran.ru

Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе Гилевой Ольги Георгиевны «Содержание неколлагеновых белков межклеточного матрикса и их коррекция при экспериментальном метаболическом синдроме и иммобилизационном стрессе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки).

Подпись д.б.н. Даниловой И.Г. заверяю:

Ученый секретарь ИИФ УрО РАН

к.б.н.



Ю.С. Храмцова

« 2 » март 2023 года