

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, Полонской Яны Владимировны на диссертацию Шишковой Дарьи Кирилловны «Механизм патогенного действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий (экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология.

Актуальность темы

Сердечно-сосудистые заболевания продолжают занимать лидирующее место среди причин смерти населения всех стран мира, включая Россию, и составляют 53,5% в структуре общей смертности. В основе большинства ССЗ лежит атеросклероз, который к моменту проявления клинической симптоматики, как правило, достаточно выражен. Более чем в 50% случаев внезапная сердечная смерть или острый инфаркт миокарда являются первыми симптомами коронарной болезни сердца, т. е. происходят на субклинической стадии атеросклероза. Поскольку одним из ключевых пусковых факторов развития атеросклероза является дисфункция эндотелия, изучение причин её возникновения, в особенности при сопутствующих патологиях, представляет собой актуальное направление в современной патологической физиологии и сосудистой биологии. Исследования отечественных и зарубежных ученых показали возможную роль кальций-фосфатных бионов в повреждении эндотелия, однако механизм их патогенного действия до настоящего момента оставался нераскрытым.

В связи с этим, необходимы исследования, направленные на понимание патогенетических механизмов формирования атеросклеротических поражений сосудистой стенки, патологического воздействия кальций-фосфатных бионов на эндотелий, приводящему к развитию его дисфункции.

Диссертация Дарьи Кирилловны Шишковой посвящена важной проблеме патологической физиологии – изучению механизма формирования

атеросклеротической бляшки и роли кальций-фосфатных бионов в этом процессе, что делает ее актуальной.

Научная новизна основных результатов работы

Объектом исследования в диссертации Дарьи Кирилловны Шишковой являются искусственно синтезированные кальций-фосфатные и магний-фосфатные бионы. Проведена всесторонняя характеристика обоих типов бионов, обосновывающая допустимость использования магний-фосфатных бионов в качестве группы сравнения для изучения механизма патогенного действия кальций-фосфатных бионов. В результате этого в работе продемонстрировано, что патогенное действие для эндотелиальных клеток специфично для кальций-фосфатных бионов, в то время как магний-фосфатные бионы не оказывают токсических эффектов.

В частности, кальций-фосфатные бионы, в отличие от магний-фосфатных бионов, индуцируют гибель артериальных и венозных эндотелиальных клеток, повышают выделение ими провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-8 в результате гиперэкспрессии соответствующих генов, а также способствуют развитию гипертрофии интимы брюшной аорты крыс по схожим с развитием атеросклеротической бляшки механизмам. При этом собственно механизмом патогенного действия кальций-фосфатных бионов после их интернализации эндотелиальными клетками является патологическая пермеабиллизация лизосом, возникающая вследствие растворения кальций-фосфатных бионов и приводящая к выделению ионов кальция в цитозоль. Это, в свою очередь, приводит к повышению уровня активной каспазы-3 и ее субстрата cPARP-1.

Значимость результатов исследования для науки и практическая ценность

Полученные в диссертационной работе результаты имеют важное значение для науки и практики. Автору удалось расширить представления о

механизмах развития атеросклероза. Шишковой Д.К. получены новые данные о механизме воздействия кальций-фосфатных бионов и их роли в лизосомально-опосредованной клеточной гибели эндотелиальных клеток.

В целом полученные результаты открывают новые перспективы в разработке способов профилактики и лечения атеросклероза, будут способствовать разработке новых препаратов нейтрализующих воздействие кальция на стенку сосудов напрямую дезинтегрируя кальций-фосфатные бионы.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов

Научные данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, и сделанные на их основании выводы доказаны использованием современного оборудования, соответствующем мировому уровню исследовательских методов, достаточным объемом экспериментов и детальным статистическим анализом.

Работа выполнена на хорошем методическом уровне с использованием современных информативных методов исследования. Проведен полноценный анализ данных по изучаемой проблеме. Методы статистического анализа достаточны для обработки полученных данных. Все это позволяет говорить об обоснованности и достоверности полученных результатов. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и цели. На основании полученных результатов даны практические рекомендации.

Структура и общая характеристика работы

Диссертация изложена на 136 страницах, включает 60 рисунков. Структура диссертации соответствует традиционной схеме и включает: введение, литературный обзор, главу «Материалы и методы», три главы результатов и обсуждений, заключение и выводы. Список литературы включает 186 источников: 2 отечественных авторов и 184 зарубежных.

Во введении раскрывается актуальность научной проблемы, анализируется степень разработанности темы, формулируются цель и задачи исследования, обосновывается научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Здесь же представлены положения, выносимые на защиту, отражено личное участие автора в выполнении работы, заключающееся в непосредственном участии в планировании исследования, определении цели и задач, анализе литературы по теме диссертации, искусственном синтезе МФБ и КФБ, экспериментах на клеточных культурах и лабораторных животных, обработке и интерпретации полученных данных, написании статей и диссертации.

Обзор литературы посвящен анализу данных по теме диссертационной работы, он дает довольно полное представление о современном состоянии исследований в области изучения кальций-фосфатных бионов, их физико-химических свойств, клинического значения и патогенных эффектов. Использовано достаточно большое количество литературных источников, что говорит о глубоком анализе диссертантом изучаемой проблемы.

Характеристика методов и материалов исследования дана в главе «Материалы и методы». В ней описаны применяемые методики, показан дизайн исследования в виде подробной схемы. Используемые методы соответствуют современному уровню.

Третья, четвёртая и пятая глава посвящены результатам собственных исследований. В этих главах подробно изложены полученные данные, касающиеся физико-химической характеристики магний-фосфатных бионов, анализа патогенного действия кальций-фосфатных бионов на культуру эндотелиальных клеток в сравнении с магний-фосфатными бионами, поиска морфологического субстрата патогенного действия бионов на эндотелиальные клетки, анализа патогенного действия кальций-фосфатных бионов и магний-фосфатных бионов *in vivo*. Каждая глава наглядно иллюстрирована, что упрощает восприятие материала.

В «Заключении» Дарья Кирилловна подводит итог своего исследования, обсуждает и обобщает результаты полученных данных и сопоставляет их с данными литературы, представляет схему патогенного действия КФБ на эндотелиальные клетки.

Выводы диссертационной работы соответствуют поставленной цели и обозначенным задачам, обоснованы, базируются на фактическом материале и являются его логическим завершением.

Хочется отметить большое количество рисунков и схем, разработанных автором, что облегчает восприятие материала.

По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ. Из них 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК и 2 – в зарубежных рецензируемых изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus. Результаты работы докладывались на отечественных и международных конгрессах, конференциях и симпозиумах. Автореферат соответствует диссертации.

Замечания по диссертации:

Принципиальных замечаний по выполненному диссертационному исследованию Дарьи Кирилловны Шишковой нет, но, после прочтения диссертации, возник ряд вопросов и замечаний:

Вопросы:

1. Каков внутриклеточный механизм индукции КФБ экспрессии цитокинов эндотелиальными клетками, в том числе интерлейкина-6 и интерлейкина-8?
2. Насколько выбранная модель повреждения баллоном эндотелия брюшной аорты крыс реально отражает атерогенез у человека?
3. Почему в качестве лизосомального ингибитора был выбран именно бафиломицин А1, а не иные химические соединения?
4. Как Вы видите дальнейшее использование полученных результатов в реальной клинической практике?

Замечания:

1. Мало российских источников, всего 2 из 186
2. Глава «Материалы и методы исследования» начинается сразу с рисунка. Первая ссылка на соответствующий рисунок или таблицу должна предшествовать их расположению на листе.
3. В работе встречается некоторое количество опечаток и неудачных формулировок.

Данные замечания не являются критическими и не снижают научно-практическую ценность работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертация Шишковой Дарьи Кирилловны «Механизм патогенного действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий (экспериментальное исследование)» представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований, созданы теоретические положения и практические разработки, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в рамках актуальной проблемы изучения механизмов развития атеросклеротической бляшки и патогенного действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий. По своей актуальности, научному уровню, объему проведенных исследований, научной и практической значимости полученных результатов, научных положений, выводов и рекомендаций диссертационная работа Дарьи Кирилловны Шишковой «Механизм патогенного действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий (экспериментальное исследование)» полностью соответствует п. 9, 10, 11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН),

доктор биологических наук  Полонская Яна Владимировна
тел.: 89134671637;
e-mail: yana-polonskaya@yandex.ru

Подпись Полонской Я.В. заверяю:
Ученый секретарь



 /к.м.н. Т.И. Романова/

Даю согласие на сбор, обработку и хранение своих персональных данных

 Полонская Я.В.

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН)». Адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, раб.тел.:+7(383)2679055,

«14» января 2020 г.