

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Чернышевой Марии Борисовны «Морфологические изменения ободочной кишки при экспериментальном алиментарном ожирении», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности

03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы исследования

По данным Всемирной Организации Здравоохранения избыточный вес и ожирение широко распространены среди населения всех возрастных групп в странах с разным состоянием развития экономики. Развитие ожирения связано с образом жизни, прежде всего пищевыми пристрастиями и сниженной физической активностью, и состоянием гормональной системы - уровнем жиросжигающих гормонов, таких как тироксин, тестостерон, эстроген, прогестерон, дефицитом витамина Д, инсулинерезистентностью, окислительным стрессом, состоянием микробиоты кишечника и т.д. Механизмы развития ожирения широко исследуются в экспериментах, но модели ожирения не стандартизованы. В этой связи является актуальной разработка адекватной экспериментальной модели, позволяющей на современном методическом уровне изучать последствия развития ожирения и проводить оценку состояния жизненно важных систем организма с использованием морфологических, биохимических, молекулярных и других биологических методов.

Целью диссертационной работы М.Б. Чернышевой является характеристика морфологических изменений эпителиального барьера и локального компартмента иммунной системы ободочной кишки на модели экспериментального алиментарного ожирения. Данные литературы по морфологическим, функциональным и молекулярно-биологическим изменениям толстой кишки при ожирении немногочисленны и фрагментарны и получены преимущественно на краткосрочных моделях эксперимента. Ожирение – это хроническое полиэтиологическое заболевание, которое сопровождается метаболическими нарушениями, повышением частоты развития сахарного диабета 2-го типа, хронических воспалительных и онкологических заболеваний. Также следует отметить, что по статистике рак толстой кишки в настоящее время занимает третье

место в мире по распространённости среди онкологических заболеваний, и поэтому ожирение рассматривается как один из провоцирующих факторов развития данной патологии.

Новизна исследования и полученных результатов, положений и выводов, сформулированных в диссертации

Впервые разработана воспроизводимая у 85% животных модель алиментарного ожирения, развивающегося при длительном (в течение 40 недель) использовании адипогенного рациона с повышенным содержанием пальмового масла и фруктозы.

При ожирении у крыс в сыворотке крови возрастает уровень эндотоксина, провоспалительный эффект которого нивелируется за счет повышения содержания кортикостерона, в связи с чем баланс уровня про- и противовоспалительных цитокинов не нарушается.

В ободочной кишке у крыс с ожирением развиваются реактивные изменения, обусловленные активацией локального компартмента иммунной системы. Количество клеток в собственной пластинке слизистой оболочки повышается, и среди них возрастает относительное содержание лимфоцитов, нейтрофилов и CD68-положительных макрофагов. В собственной пластинке слизистой оболочки нарушаются процессы ремоделирования соединительной ткани с увеличением в ней доли незрелых и зрелых коллагеновых волокон.

Впервые показано, что при ожирении активация локального компартмента иммунной системы ободочной кишки сочетается с цитофизиологическими изменениями бокаловидных клеток, в которых снижается содержание нейтральных и высокосульфатированных гликопротеинов. В составе микрофлоры толстой кишки уменьшается содержание бактерий вида *Akkermansia muciniphila*.

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

Исследование морфологических изменений эпителиального барьера и локального компартмента иммунной системы ободочной кишки при ожирении

выполнено на модели алиментарного ожирения. Выбор вида и линии лабораторных животных обоснован тем, что по данным литературы именно крысы Спрайг-Доули в процессе эксперимента делятся на неустойчивых и устойчивых к высококалорийному рациону животных, что является адекватным для алиментарного ожирения у человека. Выбранные сроки исследования позволяют зарегистрировать изменения внутренних органов.

В работе использован комплекс методов, позволивший детально охарактеризовать метаболические нарушения и изменения слизистой оболочки ободочной кишки при алиментарном ожирении: массометрические, биохимические, гистологические, гистохимические, иммуногистохимические, морфометрические, культуральные, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ (ИФА), количественная ПЦР в реальном времени и статистические методы. Даны необходимые ссылки на документы, регулирующие выполнение экспериментальных работ на животных. Представлены хорошо иллюстрированные схемы экспериментов, описаны методические подходы, использованные для статистической обработки полученных данных.

Положения, выносимые на защиту, соответствуют сформулированным цели и задачам исследования, обеспечены использованием адекватных экспериментальных моделей и современной методической базой. Достоверность полученных данных подтверждена достаточными объёмами выборок и статистической обработкой данных. Материал диссертации изложен в ясной логической последовательности и его достоверность не вызывает сомнений.

Содержание работы

Построение диссертации традиционное, ее текст представлен на 171 страницах, состоит из введения, аналитического обзора, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов. В список литературы включены 208 отечественных и зарубежных источников. Текст содержит иллюстративный материал в количестве 28 рисунков, полученные результаты систематизированы в 15 таблицах. Приведён необходимый список сокращений.

Диссертация написана грамотным научным языком, легко читается и создаёт целостное впечатление о проделанной автором работе.

Во «Введении» чётко изложены актуальность работы, обоснование выбранного направления исследования и очерчен круг тех вопросов, которые необходимо решить при проведении диссертационного исследования.

Глава «Обзор литературы» достаточно объёмная (51 страница) и даёт чёткое представление о разных аспектах заявленной проблемы исследования. В вводной части обзора представлены классификация видов ожирения, причины его развития и описаны сопровождающие ожирение метаболические нарушения. Подразделы дают представление о строении жировой ткани, её видах, функциях. Подробно описывается роль жировой ткани как эндокринного органа в активации иммунных и воспалительных реакций. Отдельный раздел обзора посвящён строению кишечника как барьера организма, дано описание состава и роли микробиоты, влияние на неё пищевого рациона. Представлен анализ известных экспериментальных моделей ожирения и дано обоснование выбранной схемы исследования.

В главе «Материалы и методы» представлена детальная информация об использованных методах исследования, реактивах, оборудовании и составе экспериментальных групп животных.

Глава «Результаты исследования» состоит из двух логических частей – характеристики модели и морфофункциональных изменений ободочной кишки при алиментарном ожирении. В первой части представлены данные, демонстрирующие изменение массы тела, индекса массы тела и массы органов животных с ожирением по сравнению с контрольной группой, и о морфологических изменениях печени, поджелудочной железы, жировой ткани. Охарактеризованы биохимические, гормональные и иммунологические изменения у экспериментальных животных с ожирением по сравнению с контрольной группой. Перечисленные выше критерии алиментарного ожирения дополнены анализом состава пристеночной и просветной микрофлоры толстой кишки. Вторая часть этой главы содержит морфофункциональную характеристику дистального отдела ободочной кишки при

алиментарном ожирении. Исследование проведено с применением цитофизиологических, гистологических, морфометрических, гистохимических и иммуногистохимических методов оценки эпителиального барьера, и структур собственной пластинки слизистой оболочки.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автором дана сравнительная оценка полученных результатов работы со сведениями, представленными в литературе. Заключение и выводы представляют собой резюме результатов диссертации, в котором суммирован итог проделанной работы. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам. Список литературы содержит ссылки на работы как отечественных (хотелось бы отметить их достаточно обширное цитирование), так и зарубежных авторов.

Личный вклад соискателя М.Б. Чернышевой заключается в анализе научной литературы, планировании и самостоятельном проведение морфологического, иммуногистохимического, биохимического и морфометрического исследования, оценке полученных результатов и их статистической обработке, подготовке публикаций.

Значимость для науки и практической медицины полученных автором результатов

Полученные М.Б. Чернышевой результаты имеют несомненную научную новизну, практическую и теоретическую значимость. Полученные экспериментальные данные о цитофизиологических изменениях бокаловидных клеток, активации локального компартмента иммунной системы и изменениях состава микрофлоры ободочной кишки следует учитывать при разработке алгоритма исследования морффункциональных изменений ободочной кишки при ожирении у человека.

Материалы диссертации доложены на 19-ой международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука 21 века» (Пущино, 2015), Всероссийской научной конференции "Экологические аспекты морфогенеза" (Воронеж, 2015), научной конференции с международным участием «Актуальные

вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016) и XV Всероссийском совещании с международным участием по эволюционной экологии (Санкт-Петербург, 2016)

В автореферате и опубликованных работах отражены в полном объёме основные положения диссертации. По материалам работы опубликовано 7 печатных работ, из них 3 статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук.

Выводы основаны на большом фактическом материале и логично вытекают из результатов, полученных лично автором.

Замечания:

1. В разделе «Результаты исследования» частично дублируется информация из раздела «Материалы и методы», что является излишним.
2. В разделе «Материалы и методы» не хватает методического описания морфологических критериев идентификации гистологических препаратах лимфоцитов и плазматических клеток, фибробластов от фиброцитов.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не умаляют значимость полученных в работе результатов.

Заключение

Диссертация М.Б. Чернышевой является научно-квалификационной работой, представляет собой самостоятельное и логически завершенное научное исследование, в котором решена актуальная научная задача - изучение морфологических изменений эпителиального барьера и локального компартмента иммунной системы ободочной кишки на модели экспериментального алиментарного ожирения.

Результаты диссертационного исследования имеют важное теоретическое и практическое значение для клеточной биологии, гистологии, цитологии, патологической анатомии, гастроэнтерологии и эндокринологии

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация М.Б. Чернышевой «Морфологические изменения ободочной кишки при экспериментальном алиментарном ожирении» соответствует требованиям пп. 9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г.№842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Кандидат биологических наук
по специальности 03.00.11 – эмбриология, гистология, цитология
старший научный сотрудник отдела патоморфологии,
клеточной биологии и биохимии
ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза»

Epoche

Мария Владиславовна Ерохина

107564, Российская Федерация, Москва, Яузская аллея, д. 2,
masha.erokhina@gmail.com
8(916) 600-44-60

Подпись М.В. Ерохиной заверяю.

Учёный секретарь

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза»



к.б.н. Г.С. Шепелькова

1021187