

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора на диссертационную работу Гониковой Залины Залимгериевны «Исследование регенераторной активности общей РНК клеток костного мозга на экспериментальных моделях печеночной недостаточности», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы, 14.03.03 – патологическая физиология.

Актуальность темы научного исследования

Регенеративная медицина в настоящее время является наиболее бурно развивающимся направлением исследований. Экспериментальные исследования с использованием клеточных технологий доказали принципиальную возможность стимуляции регенерационных процессов в поврежденных острым или хроническим заболеванием органах. Однако, определенные этические, юридические и медицинские факторы ограничивают внедрение этих методов в клиническую практику, что делает актуальным исследование альтернативных путей терапии биотехнологическими методами без использования самих стволовых/прогениторных клеток. Как в зарубежных исследованиях, так и у нас изучаются терапевтические возможности включения различных факторов роста и цитокинов в матриксную основу органа, введение продуктов секреции стволовых клеток (секретомы), использование белково-пептидных комплексов сигнальных молекул, выделенных из эмбриональных клеток.

Диссертация Гониковой З.З. как раз посвящена разработке одного из этих новых направлений экспериментальной терапии – использованию общей РНК, выделенной из несортированной фракции клеток костного мозга. Такой подход представляется весьма перспективным, поскольку РНК является информационным агентом, участвующим в индукции регенерационных

процессов и ее доставка клеткам поврежденного органа может запускать пролиферацию клеток и их дифференцировку в нужном направлении.

Таким образом, диссертационная работа Гониковой З.З. выполнена с учетом самых современных тенденций и ее актуальность не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

Результаты исследований, изложенных в диссертации Гониковой З.З., обладают принципиальной научной новизной, поскольку впервые на модели острой и хронической печеночной недостаточности было показано, что введение общей РНК, выделенной из клеток костного мозга доноров, позволяет стимулировать пролиферативные процессы в гепатоцитах и ускорять восстановление функциональной полноценности поврежденной печени. Важным моментом при этом было то, что у донора клеток предварительно выполняли частичную гепатэктомию, что должно было активировать стволовые клетки костного мозга и модифицировать их РНК, обеспечивая стимуляцию пролиферативной активности за счет усиления регенерационных сигналов. Это свойство было убедительно доказано автором на модели адоптивного переноса, в которой было зарегистрирована более высокая митотическая активность гепатоцитов после введения этой РНК даже в нормальной неповрежденной печени.

Также впервые автором было показано, что использование общей РНК при терапии острой и хронической печеночной недостаточности оказалось более эффективным, чем введение эквивалентного количества костномозговых клеток, соответствующего дозе введенной РНК, и дано обоснование этому явлению.

Автором была модифицирована методика моделирования хронического токсического повреждения печени за счет изменения схемы введения четыреххлористого углерода и дополнительного использования неполного адьюванта Фрейнда, что позволило добиться получения гистологических изменений в печени крыс, подобных циррозу печени. На этой

модели было продемонстрировано дефибрирующее действие терапии общей РНК, что также является новыми ранее неизвестными данными.

Важным значением обладают полученные данные об органной специфичности стимулирующего пролиферацию клеток действия РНК. При активации гепатотропного РНК костномозговых клеток влияния путем частичной гепатэктомии на пролиферацию эпителиальных клеток почечных канальцев эта РНК влияния не оказывала.

Новизна полученных автором результатов подтверждена 3 патентами.

Практическая значимость работы

Помимо научной новизны, полученные Гониковой 3.3. результаты обладают существенной практической значимостью. Разработана эффективная методика выделения общей РНК из клеток костного мозга, которая может быть использована в дальнейших исследованиях в области регенеративной медицины. При этом показана целесообразность предварительной органо-специфичной стимуляции стволовых клеток костного мозга, вызываемой повреждением органа-мишени. Этот подход также представляется интересным в плане дальнейших исследований.

Разработанная автором модель моделирования цирроза печени также может найти применение при исследовании препаратов с гепатотропной активностью, как с использованием клеточных технологий, так и фармакологических средств.

Результаты исследований, изложенных в диссертации, внедрены в отдел биомедицинских технологий и тканевого инжинерии Федерального бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» МЗ РФ, а также в курс образовательного обучения студентов лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), что также подтверждает практическую значимость исследований, проведенных диссертантом.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность

Все научные положения, изложенные в диссертации, полностью обоснованы. Выводы и практические рекомендации сделаны на основе профессионального анализа полученных автором результатов. Объем проведенных исследований в сочетании с адекватно выбранными методами статистического анализа обеспечивает достоверность полученных данных. Автором использованы современные методы исследований, принятые в подобных исследованиях как в России, так и за рубежом. Дизайн исследования логичен и соответствует цели и задачам исследования. Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений.

Оценка содержания и завершенности диссертации

Диссертация написана по классическому образцу, рекомендованному для кандидатских диссертаций и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, главы с описанием результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 185 источников, в том числе 25 отечественных и 160 зарубежных. Небольшое количество отечественных публикаций объясняется тем, что данное направление исследований в России в этой области только начинается. Список литературы, в отличие от наиболее часто используемого алфавитного порядка, приведен в порядке цитирования в тексте, но этот вариант разрешен ГОСТом и оставляет на усмотрение автора.

Введение содержит все предусмотренные рубрики. Актуальность, цель и задачи, научная новизна и практическая значимость хорошо сформулированы. Также в нем освещены связь работы с научными программами учреждения, личный вклад автора в данное исследование и внедрение результатов исследования в практику.

Обзор литературы прекрасно написан. В нем проанализировано современное состояние вопроса о роли клеточных и гуморальных механизмов

при хроническом повреждении печени и при ее регенерации, а также терапевтические подходы, направленные на коррекцию острой и хронической печеночной недостаточности, в том числе с использованием противовоспалительной и иммуносупрессивной терапии, клеточных технологий и генной индукции процессов пролиферации терапией препаратами РНК. Показано, что для стимуляции регенерации регенерации необходим определенный набор микро-РНК. Обзор заканчивается логичным заключением, обосновывающим целесообразность проведения исследований по эффективности использования РНК для терапии острой и хронической печеночной недостаточности.

Во 2 главе дается характеристика материала и методов исследования. Обращает на себя внимание большой объем проведенных экспериментов – 453 опыта на крысах. Подробно описаны способ выделения общей РНК из стимулированных клеток костного мозга, методы моделирования острой и хронической печеночной недостаточности, причем, отмечаются модификации моделирования хронической печеночной недостаточности, позволяющие получить модель, наиболее приближенную к циррозу печени, а также модель адоптивного переноса для оценки стимулирующего пролиферацию эффекта выделенной общей РНК на гепатоциты.

Для оценки эффекта терапии РНК автором были использованы современные биохимические, гистологические и гистохимические методы исследования, обеспечивающие получение достоверных результатов. Цифровые данные были адекватно проанализированы статистическими методами.

В 3 главе изложены результаты собственных исследований. Построение этой главы очень логично. В первом разделе, используя модель адоптивного переноса, проводили доказательство того, что общая РНК, выделенная из активированных клеток костного мозга способна стимулировать пролиферацию гепатоцитов. После доказательства этой ее способности в следующих разделах изучали эффект терапии путем введения

РНК при острой и хронической печеночной недостаточности. При этом оценивали митотическую активность клеток, в том числе с использованием гистохимического маркера Ki67, динамику восстановления функциональных параметров печени, восстановления гистологической структуры органа, а также динамику увеличения массы печени после ее субтотальной резекции.

В этих разделах продемонстрирована эффективность выбранного подхода терапии как острой, так и хронической печеночной недостаточности, причем доказана ее более высокая эффективность, чем использование культуры донорских клеток костного мозга.

Результаты этой главы достаточно хорошо иллюстрированы графиками и таблицами.

В главе «Обсуждение результатов» анализируются полученные автором данные в сопоставлении с данными литературы об исследованиях в смежных направлениях. В ней обсуждают возможности клеточной терапии и терапии дериватами стволовых клеток и перспективность их развития в будущем. Эта глава хорошо написана и представляет собой основу для последующего краткого заключения, а также выводов и практических рекомендации, сделанных на основании анализа результатов исследования.

По теме диссертации опубликовано 6 работ, 2 из которых представляют статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАКом, 4 тезисов докладов, а также 3 патента на изобретение.

Принципиальных замечаний к рассматриваемой диссертационной работе нет. Следует только отметить, что гистологические иллюстрации не всегда информативны, так как при малом увеличении не всегда возможно увидеть то, что должен иллюстрировать этот рисунок.

В целом можно дать высокую положительную оценку качества проведенного исследования и ее значимость как научном, так и в практическом плане.

Заключение

Диссертация 3.3. Гониковой на тему «Исследование регенераторной активности общей РНК клеток костного мозга на экспериментальных моделях печеночной недостаточности» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой решена важная научно - практическая задача – методика выделения общей РНК из активированных клеток костного мозга и обоснование эффективности ее использования для терапии острой и хронической печеночной недостаточности. Рассматриваемая диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сама автор - 3.3. Гоникова достойна присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.01.24 - трансплантология и искусственные органы и 14.03.03 - патологическая физиология.

Главный научный сотрудник НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» МЗ РФ, доктор мед. наук, профессор

Кирпатовский Владимир Игоревич

Подпись проф. Кирпатовского В.И. подтверждаю.

Ученый секретарь НИИ урологии и интервенционной радиологии

им. Н.А.Лопаткина, к.м.н



Никушина А.А.

17.07.2019

Почтовый адрес: 105425, Российская Федерация, г. Москва, ул. Парковая 3-я, 51, стр.1. Телефон: +7(916) 488-1413

Электронная почта: vladkirp@yandex.ru

Адрес в сети интернет: <http://uroline.ru/>