

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной работе

ФГБНУ «ИЭМ»

Проф. РАН, д.б.н.



Дмитриев А.В.

октября 2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

о научно-практической ценности диссертации

Честновой Анны Юрьевны «Содержание и структура гликогена в гепатоцитах нормальной и цирротической печени крысы и человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность темы выполненной работы

Исследование содержания и структуры гликогена в гепатоцитах нормальной и цирротической печени крысы и человека представляет собой одну из актуальных задач современной клеточной биологии, цитологии и гистологии. Необходимо отметить, что хотя со времени открытия гликогена прошло уже более полутора веков и за эти годы было выполнено большое количество как зарубежных, так и отечественных работ вследствие чего были охарактеризованы некоторые механизмы обуславливающие регуляцию гликогена в организме, в настоящее время остаются неясными ряд положений весьма важных для понимания биологии гепатоцитов. В частности, не проведен в полном объеме сравнительный анализ внутренней

структуры частиц гликогена у различных видов млекопитающих как в нормальных условиях, так и при патологических состояниях. Неясен конкретные механизмы структурных изменений гликогена в клетках печени при хронических гепатитах. В настоящее время пространственное изучение структуры гликогена осуществляется при помощи различных методов, однако ни один из них не способен в полной мере подойти к решению данной задачи, что и обуславливает поиск новых подходов и методов исследования.

Все вышеперечисленное позволяет заключить, что работа А.Ю. Чисовой предполагающая восполнить имеющиеся пробелы в биологии гепатоцитов и посвященная изучению содержания и структуры гликогена в гепатоцитах нормальной и цирротической печени крысы и человека является весьма актуальной.

Структура и объем диссертации

Работа написана по традиционному плану, представлена 176 страницами машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Во введении (7 страниц) автор предельно четко формулирует актуальность, цели и задачи работы, основные положения, научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования. Обзор литературы (50 страниц) всесторонне охватывает как классические, так и современные данные последних лет. В разделе «материал и методика» (16 страниц) диссертант подробно описывает методические приемы используемые в настоящем исследовании, в том числе и оригинальный авторский метод определения содержания и структуры гликогена, а также статобработку полученных данных. Результаты собственных исследований приведены на 42 страницах машинописного текста, где подробно описаны полученные данные о микроскопическом строении печени, полиплоидии и гипертрофии

гепатоцитов, характеристика гликогенеза, степень заполнения внешних ярусов бета частиц гликогена в норме и патологии у крыс и человека. Работа иллюстрирована 76 рисунками отличного качества и 8 таблицами. В обсуждении (19 стр.) автор проводит сравнительный анализ собственных и литературных данных о морфофункциональных особенностях гепатоцитов крысы и человека, акцентируя особое внимание на содержание и структуру гликогена в нормальных и патологических условиях. Список литературы включает 444 источника (78 отечественных и 366 зарубежных).

Результаты исследования, их новизна.

Необходимо подчеркнуть, что несомненно пионерской работой и достижением является разработанный авторами микрофлуориметрический метод определения содержания и структуры гликогена в отдельных гепатоцитах на основе FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

Используя как различные современные и классические методические приемы, так и разработав и применив в исследованиях свой оригинальный, диссертант выявила новые данные и сформулировала четкие положения об особенностях гликогенеза в гепатоцитах нормальной и патологической печени крыс и человека.

А.Ю. Честнова получила крайне важные пионерские данные о том, что в интактной печени как человека, так и крыс содержание гликогена в гепатоцитах регулируется по сходным правилам и зависит от размера клеток. Необходимо отметить, что в гепатоцитах цирротической печени такой закономерности обнаружено не было.

В тоже время, согласно убедительным данным диссертанта, «в процессе гликогенеза сухая масса гепатоцитов и содержание в них гликогена, как в нормальной, так и в цирротической печени крысы, изменяются пропорционально дозе генов». Результаты эти также являются приоритетными.

Весьма важным и крайне интересным является результаты, характеризующие не только уровень, но и структуру гликогена в гепатоцитах в нормальных условиях и в процессе патологических изменений в печени.

Таким образом, А.Ю. Честнова получила новые интересные данные и сформулировала положение о том, что у интактных крыс в гепатоцитах на ранних стадиях гликогенеза происходит изменение содержания общего гликогена за счет синтеза новых β -частиц, на поздних-посредством присоединения глюкозных остатков к частицам, уже имеющимся в клетках. В гепатоцитах же цирротических крыс «изменение содержания общего гликогена на протяжении всего гликогенеза обусловлено лишь заполнением внешних ярусов β -частиц». В гепатоцитах человека с диагностированным циррозом увеличение количества гликогена обусловлено, в основном, за счет образования *de novo* β -частиц.

А.Ю. Честнова получила пионерские данные, характеризующие расстояния между цепями глюкозных остатков в бета частицах гликогена по мере развития цирроза у крыс и человека.

Полученные автором результаты о том, что расстояние между внешними ярусами β -частиц уменьшается по мере заполнения их остатками глюкозы, являются также приоритетными и свидетельствуют в пользу гипотезы о саморегулируемости размера частиц.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. Диссертационное исследование выполнено на достаточном по объему материале: были изучены и охарактеризованы гепатоциты печени 36 половозрелых беспородных крыс как интактных, так и опытных (многократное воздействие четыреххлористым углеродом), а также гепатоциты биопсийного материала полученного у 5 больных хроническим гепатитом и 7 пациентов с циррозом печени. В качестве контроля были

использованы биоптаты полученные у 7 человек без морфологических и клинических признаков поражения печени.

Достоверность полученных А.Ю. Честновой результатов также определяется использованием как классических, так и современных (в том числе и оригинального авторского) методов исследования (цитологических, гистологических, иммуногистохимических, морфометрических), адекватных поставленной цели и задачам, а также корректно выполненным статистическим анализом полученных данных.

Достоинством работы является комплексный подход к достижению поставленной цели, включающий в себя многочисленные методы исследования, использование которых позволило получить принципиально новые результаты, что расширило наши познания о морфофункциональных особенностях гепатоцитов крыс и человека в нормальных и патологических условиях.

Сформулированные автором выводы достоверны и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования.

Рекомендации сформулированные автором диссертации не вызывают никакого сомнения и являются весьма ценными

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научно-теоретическая значимость диссертационной работы А.Ю. Честновой заключается в ее фундаментальности и вносит вклад в понимание функционирования гепатоцитов, в частности содержания и структуры гликогена у крысы и человека в норме и при поражении печени. Материалы данного исследования существенно дополняют научные знания и представления о биологии гепатоцитов и имеют не только теоретическое значение для цитологии, гистологии, клеточной биологии, но и позволяют подойти к пониманию процессов происходящих у больных с поражением печени.

Работа имеет и прикладное значение, так как ее результаты являются базисными и могут использоваться не только для исследований морфофункциональных особенностей гепатоцитов при тех или иных патологиях печени т.е., в частности, характеризовать степень поражения при циррозе, но и служить основой для прогнозирования течения данного заболевания, а также и для создания еще одного критерия для определения степени эффективности проводимого лечения.

Крайне важным и полезным является созданный А.Ю. Честновой новый метод изучения гликогена в гепатоцитах. Метод этот может быть применен специалистами, работающими в области клеточной биологии, цитологии, гистологии и биологии развития,

Полученные данные могут быть использованы в курсах лекций для студентов биологических факультетов университетов и медицинских институтов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Выявленные А.Ю. Честновой закономерности содержания и структуры гликогена в нормальной и цирротической печени, а также используемый для этих целей оригинальный авторский метод и сформулированные на основе анализа этих закономерностей практические выводы способствуют познанию механизмов, регулирующих морфофункциональные особенности гепатоцитов и соответственно причин возникновения, характера течения при патологических состояниях. Результаты эти могут быть использованы для исследователей, работающих по изучению биологии гепатоцитов в научных подразделениях, а также могут служить базисом для создания и использования в практическом здравоохранении нового метода не только характеризующего эффективность лечения, но и для прогноза течения цирроза печени.

Полученные данные об особенностях гликогенеза в гепатоцитах нормальной и патологической печени крысы и человека могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах цитологии и гистологии биологических факультетов Университета и медицинских Вузов.

Замечаний по диссертационной работе А.Ю. Честновой нет.

Заключение

Диссертационная работа Честновой Анны Юрьевны «Содержание и структура гликогена в гепатоцитах нормальной и цирротической печени крысы и человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение актуальной задачи о содержании и структуре гликогенеза в гепатоцитах в нормальных и патологических условиях, что имеет большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии.

Содержание автореферата полностью отражает основные результаты, изложенные в диссертации. Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования.

Количество статей по теме диссертации 7, из них в журналах рекомендованных ВАК РФ- 5, тезисов -6.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Честновой Анны Юрьевны соответствует требованиям п.9. «Положение о присуждении ученых степеней» Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и утвержден на совместном заседании Отдела общей и частной морфологии и Отдела молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 5 от 07 октября 2016 года).

Ведущий научный сотрудник

Отдела молекулярной генетики

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт

экспериментальной медицины»

доктор медицинских наук по специальности

03.03.04-клеточная биология, цитология, гистология,

доцент

(Дыбан Павел Андреевич)

ФГБНУ «ИЭМ»

197376, Санкт-Петербург, академика Павлова 12,

Тел. (812) 2346868, e-mail: iem@iemrams.ru

