

## ОТЗЫВ

### ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Прощиной Александры Евгеньевны  
"Морфогенетическая пластичность эндокринной части  
поджелудочной железы человека",  
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук  
по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология

#### **Актуальность темы исследования**

Исследование Прощиной А.Е. посвящено актуальной проблеме современной морфологии: изучению структурной пластичности эндокринной части поджелудочной железы человека в пре- и постнатальном развитии и при нарушениях углеводного обмена.

В современной научной литературе имеется большое количество публикаций, посвященных различным нарушениям в эндокринной части поджелудочной железы при сахарном диабете, одного из самых распространенных заболеваний. Эффективный контроль сахарного диабета может свести до минимума или предотвратить многие его осложнения. Однако, колоссальные экономические затраты и социальный ущерб, обуславливают необходимость разработки методов возобновления естественного пула В-клеток для восстановления нормальной функции эндокринной части ПЖ. В настоящее время перспективным считается поиск прогениторных клеток и эксперименты со стволовыми клетками, но источники происхождения эндокринных клеток ПЖ требуют уточнения. Таким образом, ключевыми вопросами в изучении эндокринной части ПЖ на сегодняшний день являются:

1. Что является источником происхождения эндокринных клеток поджелудочной железы у взрослых людей?
2. Можно ли избирательно стимулировать неогенез эндокринных клеток и островков и до какой степени?

Для решения этих вопросов очень важно детальное понимание становления структуры и функции эндокринной части поджелудочной

железы в пренатальном развитии. В то же время, несмотря на то, что морфогенез эндокринной части поджелудочной железы достаточно хорошо изучен у экспериментальных животных (в первую очередь у мышей), данные о ее развитии у человека немногочисленны и противоречивы. Например, до сих пор окончательно не решен вопрос о механизмах и последовательности формирования островков у человека. Недостаточно изученными остаются также изменения, которые происходят в эндокринной части поджелудочной железы при старении.

Эти вопросы связаны, в первую очередь, с проблемой пластичности эндокринной части ПЖ, ее способности изменяться под влиянием разнообразных факторов, что свидетельствует о научно-практической обоснованности и высокой актуальности данной диссертации.

### **Научная новизна и ценность полученных результатов**

Новизна результатов диссертационного исследования заключается в том, что автором впервые были получены данные о проявлениях пластичности структурной организации эндокринной части поджелудочной железы человека. При развитии поджелудочной железы человека последовательно появляются ее различные морфологические формы: от одиночных эндокринных клеток до смешанных островков Лангерганса, насчитывающих сотни эндокринных клеток разных видов. В диссертационном исследовании показано, что у человека эти формы не сменяют друг друга, а существуют одновременно, появляясь по мере развития ПЖ человека. Отличительной чертой данного исследования является то, что анализ морфометрических параметров эндокринной части поджелудочной железы (размеры, клеточный состав) был проведен отдельно для разных форм ее структурной организации. Такой подход вместе с применением новейшей методики множественного иммуногистохимического окрашивания позволил обнаружить целый ряд новых закономерностей формообразования островков: в работе было показано, что распределение и

количество А-, В- и D-клеток зависит от размеров островков и их васкуляризации. Также этот подход позволил выявить, что, вопреки принятому мнению, в поджелудочной железе взрослого человека преобладают островки плащевого типа. При старении и при нарушениях углеводного обмена (сахарном диабете 1 и 2 типов и при диабетической фетопатии) увеличивается относительное количество крупных смешанных островков Лангерганса. Таким образом в работе впервые показано, что пластичность эндокринной части поджелудочной железы проявляется в изменении плотности распределения разных форм ее структурной организации и их соотношения, а также в изменении клеточного состава панкреатических островков.

Другой интересной находкой данного исследования является то, что на всех изученных сроках развития поджелудочной железы человека (в том числе и у взрослых людей) выявлены клетки с колокализацией инсулина и глюкагона. Эти клетки обнаружены в том числе и в смешанных островках. Тот факт, что такие клетки обнаружены в поджелудочной железе многих позвоночных животных и наибольшее количество таких клеток встречается в пре- и раннефетальном периодах развития у человека, позволяет отнести этот признак к анцестральным.

В работе также были изучены нейроэндокринные взаимодействия на разных сроках развития человека и впервые проведен их количественный анализ и созданы трехмерные реконструкции. Проведенное исследование позволяет предположить, что эти взаимодействия могут играть важную роль в морфогенезе островков.

### **Научно-практическая значимость**

Данные о пластичности эндокринной части поджелудочной железы человека, представленные в диссертационном исследовании, являются фундаментальными и расширяют имеющиеся знания о морфогенезе эндокринной части поджелудочной железы и способствуют лучшему

пониманию причин возникновения и характера течения нарушений углеводного обмена.

Важное прикладное значение имеют данные об изменении клеточного состава островков Лангерганса в зависимости их размера и васкуляризации. В настоящее время ведется разработка методов лечения сахарного диабета при помощи островков или В-клеток островков ПЖ и конструкций, функционирующих на принципах гормональной регуляции углеводного обмена. Для выделения подходящих для трансплантации островков необходимы детальные сведения об их физиологических и биохимических параметрах, клеточном составе, васкуляризации, иннервации. В настоящем исследовании были получены данные о том, что наиболее крупные островки не подходят для трансплантации из-за высокой степени васкуляризации и повышенного содержания в них глюкагон- и соматостатин-содержащих клеток. Такое повышение требований к донорским тканям может привести с одной стороны к существенному увеличению срока жизни трансплантата, а с другой - повышает трудоемкость данной операции.

Также в исследовании у значительной части пациентов с длительно текущим сахарным диабетом 1 типа выявлена секреция инсулина, что свидетельствует о сохранении или восстановлении популяции бета-клеток поджелудочной железы, что необходимо учитывать при разработке новых подходов к терапии этого заболевания.

Результаты данного диссертационного исследования могут быть использованы в учебном процессе студентов медицинских и биологических факультетов на кафедрах гистологии, эмбриологии и физиологии, а также на курсах повышения квалификации врачей-эндокринологов.

#### **Степень обоснованности и достоверности полученных научных положений и выводов.**

Работа выполнена на достаточном количестве материала (образцы 112 аутопсий поджелудочной железы). В работе по изучению пренатального и

неонатального развития поджелудочной железы человека был использован материал, полученный от 42 плодов на разных сроках развития и новорожденных (в том числе редкий материал 5 плодов от матерей с нарушениями углеводного обмена). Для исследования эндокринной части поджелудочной железы взрослых людей, не страдавших нарушениями углеводного обмена, использованы образцы поджелудочной железы 47 людей в возрасте от 22 до 90 лет. Также исследованы аутопсийные образцы 5 поджелудочных желез лиц, страдавших сахарным диабетом первого типа и 18 желез - второго. Кроме этого в работе использованы данные клинического исследования остаточной секреции инсулина у 300 пациентов с длительным течением сахарного диабета 1 типа.

Работа выполнена с применением комплекса методов, позволяющих достаточно полно охарактеризовать проявления морфогенетической пластичности эндокринной части поджелудочной железы. Для изготовления обзорных препаратов использована гистологическая окраска препаратов гематоксилином и эозином, для выявления морфологических изменений эндокринной части ПЖ приготовлены препараты, окрашенные конго красным и по Маллори. В работе применена широкая панель антител для проведения иммуногистохимических реакций: антитела к инсулину, глюкагону и соматостатину для выявления гормонов большинства клеток эндокринной части поджелудочной железы, антитела к белкам нервной системы - нейронспецифической енолазе, белку S100, глиальному фибриллярному кислому белку, основному и периферическому белкам миелина и рецептору p-75 фактора роста нервов для выявления нейроэндокринных взаимодействий и, наконец, использовано 5 антител к различным кластерам дифференцировки для характеристики воспалительной реакции, обнаруженной у лиц с сахарным диабетом 1 типа. К достоинствам работы можно отнести то, что кроме классического иммунопероксидазного метода были применены методы множественного (одновременного

выявления 2 или 3 маркеров на одном срезе) иммуногистохимического окрашивания.

На полученных препаратах проведен комплексный морфометрический анализ, результаты которого корректно обработаны при помощи адекватных статистических методов.

Также проведена работа по обработке данных полученных в ходе иммуноферментного и иммунорадиометрического анализа концентрации С-пептида, глюкагона и антител к инсулину в периферической крови пациентов, длительно страдавших сахарным диабетом 1 типа.

Таким образом, учитывая объем материала и широкий спектр адекватных цели и задачам исследования методам, достоверность и обоснованность полученных в ходе исследования данных и представленных выводов не вызывает сомнения. Личный вклад соискателя - несомненен и заключался в планировании и проведении исследования, статистической обработке, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

Диссертация написана по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материала, методов и результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы и приложения. Список литературы включает 393 отечественных и зарубежных авторов. Работа хорошо иллюстрирована 32 рисунками, которые включают 30 монтажей из 154 микрофотографий. Текст диссертации и приложение совокупно дополнены 30 таблицами и 2 схемами, в которых отражены материалы и методы исследования и данные морфометрического анализа препаратов.

Результаты исследования были представлены на конференциях и съездах различного уровня, в числе которых есть и международные.

Материалы диссертации в полной мере отражены в 34 печатных работах, 12 из которых в изданиях рекомендуемых ВАК РФ. Автореферат

диссертации по своему содержанию соответствует материалам, изложенным в тексте диссертации.

Принципиальных замечаний по представленной работе не имею.

Однако есть некоторые замечания и вопросы, не влияющие на общую оценку работы.

1. В работе есть некоторое количество грамматических ошибок и стилистически неудачных выражений.

2. Часть представленных микрофотографий нуждается в большем увеличении.

3. Проводилось ли исследование межполовых различий в строении эндокринной части поджелудочной железы?

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

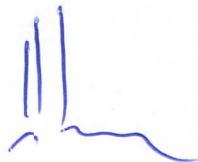
Диссертация Проциной А.Е. "Морфогенетическая пластичность эндокринной части поджелудочной железы человека" является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно охарактеризовать как крупное научное достижение в области морфологии эндокринной системы. Результаты проведенных исследований вносят вклад в понимание патогенеза нарушений углеводного обмена и могут составить основу для разработки принципиально новых подходов к их коррекции.

Полученные результаты исследования имеют важное теоретическое и практическое значение для гистологии, биологии развития, эндокринологии и физиологии.

По актуальности темы исследования, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости и достоверности полученных результатов диссертация Проциной Александры Евгеньевны соответствует п. 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней" ВАК

Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 с изменениями от 21 апреля 2016 г №335), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Доктор биологических наук по специальностям  
03.00.11 эмбриология, цитология, гистология,  
03.00.13 физиология человека и животных,  
профессор кафедры эмбриологии  
биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова,  
119234, Россия, Москва, Ленинские горы,  
д. 1, стр. 12  
+74959748057  
golichenkov@msu.ru



В.А. Голиченков

ДЕКАН  
биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова  
академик РАН



М.П. Кирпичников

27.04.17

