

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Васильевой Екатерины Александровны «Цитофизиология фибробластов кожи детей подросткового возраста при воспалительных заболеваниях кишечника», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04
клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Васильевой Е.А. посвящена актуальной проблеме современной клеточной биологии и гастроэнтерологии, а именно изучению патогенеза Болезни Крона и язвенного колита, решение которой имеет огромное социально-экономическое значение. Современные лечебные мероприятия не достигают полного контроля над патологическим процессом и не приводят к восстановлению прежнего статуса пациента, а частота встречаемости осложнений при данных патологиях достаточно высока. В связи с этим создание адекватных экспериментальных моделей для изучения патогенеза, поиска терапевтических мишеней и разработки прогностических критериев являются первостепенными задачами.

Автор поставила перед собой цель определить морффункциональные свойства фибробластов кожи детей в норме и особенности их реактивности при воспалительных заболеваниях кишечника, а также охарактеризовать стимулируемый липополисахаридом грамотрицательных бактерий секретом культивируемых фибробластов культивируемых фибробластов. Для реализации поставленных задач в работе применены современные культуральные, цитологические и иммунологические методы исследования.

Научная новизна работы

В работе впервые проведен тщательный анализ фибробластов дермы детей подросткового возраста в условиях физиологической нормы и при воспалительных заболеваниях кишечника: определены морфологические характеристики, клоногенный потенциал, поверхностные маркеры и цитокиновый профиль, что дало возможность автору доказать, что фибробласти кожи предплечья вовлечены в системный ответ на хроническое локальное воспаление в кишечнике. Автором впервые показано, что при воспалительных заболеваниях кишечника фибробласти кожи предплечья продуцируют провоспалительный секретом с повышенным содержанием IL-1 β , FAP, PDGF-BB, фибронектина, но сниженным содержанием IL-10, FGFb и макромолекул коллагена IV типа, отсутствием изменений в секреции TGF β 1, снижением соотношения IL-1RA/IL-1 β .

Провоспалительный профиль спонтанно секрецируемых биологически активных молекул фибробластами кожи детей с воспалительными заболеваниями кишечника сохраняется в течение 6 пассажей при культивировании фибробластов кожи *in vitro*.

В диссертационной работе впервые было показано, что колониеобразующие характеристики дермальных фибробластов детей с заболеваниями кишечника отличаются от условно здоровых детей: дермальные фибробласти детей с воспалительными заболеваниями кишечника при культивировании интенсивнее формируют рыхлые колонии, чем плотные, обладают более низкой эффективностью колониеобразования.

Автором показаны различия между популяциями дермальных фибробластов детей с язвенным колитом и клеток условно здоровых детей и детей с болезнью Крона по количеству CD10-положительных клеток. В популяции дермальных фибробластов детей с язвенным колитом в 2 раза больше CD10-положительных клеток. Кроме того, популяция дермальных фибробластов детей с язвенным колитом отличалась от других популяций по уровню экспрессии антигенов CD44, CD13 и CD10 на клеточной поверхности, которая повышена в среднем в 2 раза.

Также автором выявлено негативное влияние липополисахарида *E. coli* O55:B5 на процесс образования макромолекул коллагена IV типа фибробластами кожи при воспалительных заболеваний кишечника, что важно для понимания сигнального пути, участвующего в регуляции экспрессии данной молекулы.

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

Материал, использованный в диссертационной работе, уникален, достаточный по числу наблюдений и включает в себя по 30 культур фибробластов дермы, полученных от детей с болезнью Крона, язвенным колитом и условно здоровых детей. Методы исследования обширны и адекватны, включают культуральный, цитологический, морфометрический, молекулярно-биологический, иммунологический, статистический.

Использование в работе системного подхода к изучению поставленной задачи, а также комплекса современных методов обеспечивает достоверность и обоснованность полученных результатов. Автор проверяет полученные результаты широким применением статистического анализа. Все это позволяет сделать заключение о высокой репрезентативности результатов и выводов диссертации.

Значимость для науки и практической медицины полученных автором результатов

Результаты диссертационного исследования по различиям морфологических и функциональных характеристик фибробластов кожи при болезни Крона и язвенном колите вносят существенный вклад в теорию воспаления, патогенез воспалительных заболеваний кишечника и являются фундаментальными.

Полученные в работе данные о воздействии индукторов воспаления (липополисахарид *Escherichia coli*) на секреторную функцию фибробластов кожи детей подросткового возраста при воспалении позволяют обосновать возникновение осложнений воспалительных заболеваний кишечника, что имеет большое значение в клинике для прогнозирования течения, подбора и проведения эффективной патогенетической терапии, в частности, антибактериальными препаратами.

Охарактеризованные в настоящей работе фибробlastы кожи детей с воспалительными заболеваниями кишечника являются удобной моделью для изучения биологических процессов при патологических состояниях, а также для биомедицинских исследований инновационных лекарственных препаратов.

Полученные результаты могут быть использованы в практической работе гастроэнтерологического и иммунологического отделений в качестве диагностических критериев и мониторинга хронического воспаления.

Результаты исследования представленной диссертационной работы указывают, что при определении статуса мезенхимальных стромальных клеток для эффективной аутологичной клеточной терапии необходимо учитывать их провоспалительный секретом как дополнительный критерий.

Данные по морфологическим и функциональным особенностям фибробластов кожи детей подросткового возраста включены в курс лекций соответствующих спецкурсов для студентов биологических и медицинских факультетов вузов.

Диссертации построена по традиционному плану. Полученные автором результаты грамотно, последовательно изложены. Работа иллюстрирована 13 рисунками, содержит 19 таблиц. Список цитируемой литературы включает 215 источников.

В автореферате и опубликованных работах отражены основные положения диссертации. По материалам работы опубликовано 20 печатных работ, в том числе 6 работ в журналах, из Перечня 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 фактическом материале и логично вытекают из результатов, полученных лично автором.

Однако к диссертации есть ряд замечаний:

1) В тексте диссертации говорилось, что проверка гипотезы о нормальном распределении проводилась с применением критерия Шапиро-Уилка и гипотеза о нормальном распределении значений переменной отвергалась, если критерий был статистически значим. Каков был результат данных вычислений в тексте диссертации не сообщается. Использование в дальнейшем критерия Манна-Уитни, конечно, отвечает на этот вопрос, однако хотелось бы видеть в тексте диссертации прямой ответ на поставленный вопрос.

2) На рисунке 11а диссертации (и рисунке 6а автореферата) показаны концентрации коллагена IV типа, продуцируемые дермальными фибробластами, при этом выявлено статистически значимое отличие между фибробластами, полученными от больных язвенным колитом и фибробластами, полученными от больных болезнью Крона или здоровых индивидуумов. Однако, на представленных графиках достоверность различий не очевидна.

3) Выводы диссертации написаны не очень хорошо и скорее напоминают описание результатов. Это замечание было бы существенным, если бы не раздел заключение, где написаны именно выводы и написаны очень хорошо.

4) В обсуждении результатов работы совершенно не обсуждается возможная роль генетического бэкграунда, который может являться основой наблюдаемых эффектов. Помимо этого, в литературе присутствуют данные, характеризующие изменения эпидермиса и дермы при ВЗК. Сравнение сформулированной в данной работе модели регуляции функционирования фибробластов дермы детей с существующими данными могло бы дополнить и обогатить представленную работу.

Тем не менее, считаю, что указанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

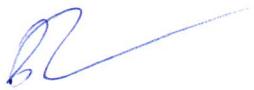
Диссертация Е.А. Васильевой является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научная задача – изучение моррофункциональные свойства фибробластов кожи детей с воспалительными заболеваниями кишечника.

Результаты диссертационного исследования имеют теоретическое и практическое значение для клеточной биологии и гастроэнтерологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Васильевой Е.А. «Цитофизиология

фибробластов кожи детей подросткового возраста при воспалительных заболеваниях кишечника», соответствует требованиям пп. 9 - 14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168 предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология.

Заместитель директора по научной работе
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук,
заведующий лабораторией функциональной геномики
кандидат биологических наук по специальности
03.01.03 – молекулярная биология, доцент



С.А. Брускин

20.09.2019

Подпись Брускина С.А. заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

д.б.н., профессор



С.К. Абильев

Адрес Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук: 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3, (499) 135-62-13, iogen@vigg.ru, brouskin@vigg.ru

Данные об оппоненте:

Брускин Сергей Александрович – кандидат биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, доцент, заведующий лабораторией функциональной геномики, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3, (499) 135-62-13, iogen@vigg.ru, brouskin@vigg.ru