

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Брезгуновой Анны Александровны
на тему: «Изучение механизмов острого почечного повреждения и
подходов к нефропротекции при ишемии почки и системном
воспалении»
по специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных»

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Брезгуновой Анны Александровны посвящена изучению механизмов такого социально значимого заболевания, как острое почечное повреждение (ОПП). Данная патология характеризуется высоким процентом смертности, особенно среди больных в отделениях интенсивной терапии. Данное заболевание характерно для разных возрастных групп, в том числе и для новорожденных пациентов, у которых ОПП часто развивается как последствие сепсиса. Представленное исследование представляет интерес из-за того, что до сих пор не разработано способов специфической терапии ОПП, а имеющиеся подходы направлены не на патогенетические механизмы повреждения почек, а на лечение последствий. Применяемые в настоящее время препараты ограничиваются поддерживающей терапией, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения механизмов ОПП и поиска перспективных мишеней и целевых терапевтических подходов. Стоит отметить, что ОПП может развиваться из-за многих причин, например, вследствие ишемии или сепсиса, поэтому исследование данной патологии с использованием различных экспериментальных подходов является актуальной исследовательской задачей, которой и посвящена данная диссертационная работа.

Структура и объем диссертации

Диссертация объемом 156 страниц, содержащая 36 рисунков структурирована по классическому плану, состоит из введения, обзора

литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов, заключения, списка используемых сокращений и списка литературы, включающего 216 источников.

В обзоре литературы автором даны актуальные сведения по определению, критериям диагностики, эпидемиологии, патогенезу ишемического и септического повреждения почек и потенциальным подходам к терапии ОПП. Так как в работе представлена новая экспериментальная модель повреждения, в данной главе также обзревается классические подходы к моделированию ОПП и дано описание модели фотоиндуцированного тромбоза мозга, которая легла в основу создания нового способа индукции ОПП. Кроме того, в обзоре литературы описаны известные на данный момент эффекты и детали эффектов на сигнальные пути клеток этаноламида докозагексаеновой кислоты синаптамида, влияние которого исследуется в работе.

В главе «Материалы и методы» автором подробно описаны методики, используемые в диссертационном исследовании, а также представлены схемы проведенных экспериментов. В работе были использованы актуальные и современные модели и подходы, а именно широкий арсенал хирургических, биохимических, молекулярных и гистологических методов, соответствующих поставленным в работе цели и задачам. Так, в рамках данной диссертации были использованы электрофорез, вестерн-блоттинг, ОТ-ПЦР в реальном времени, проточная цитометрия и флуоресцентно-активируемый сортинг, большой набор гистологических и иммуногистофлуоресцентных окрашиваний, что говорит о высоком методическом уровне работы. В связи с тем, что в рамках данной диссертации представлена новая экспериментальная модель повреждения почки, а именно фотоиндуцированный тромбоз сосудов почки, данная глава представляет интерес в качестве методического пособия для других научных групп.

В главе «Результаты» автор приводит большое количество экспериментальных данных, посвященных трем большим блокам экспериментов. Особый интерес представляет характеристика развивающегося при фототромбозе почки повреждения, так как эти данные являются новыми и впервые представлены в рамках данной работы. Автором продемонстрировано, что в месте индукции очага повреждения наблюдается явное нарушение морфологии почечной ткани, изменение проницаемости сосудов, гибель клеток почки, а в отдаленный период развивается фиброз и происходит привлечение макрофагов с противовоспалительным фенотипом. Кроме того, описана воспалительная реакция, развивающаяся в почке после ишемии/реперфузии, а также выявлены противовоспалительные эффекты терапии синаптамидом при ОПП, чего не было показано ранее. Последняя группа результатов посвящена ОПП, вызванному системным воспалением, у новорожденных крыс, а также оценке влияния антибиотика гентамицина на развитие ОПП, вызванного липополисахаридом. Кроме того, приведен анализ клинических данных пациентов, оценена связь между системным воспалением и повреждением почек, а также влияние антибактериальной терапии у новорожденных пациентов с сепсисом.

В «Обсуждении» автор подробно анализирует полученные результаты, проводя сравнение с данными научной литературы. Обсуждаются преимущества моделирования повреждения почки с помощью принципа фототромбоза, а также приводится сравнение с конвенциональной моделью ОПП ишемией/реперфузией. Кроме того, обсуждается такое важное звено патогенеза ишемически-реперфузионного ОПП как воспаление, а также применение веществ, модулирующих воспалительный ответ в качестве возможной терапевтической стратегии. В данной главе автор объясняет результаты, полученные при оценке влияния синаптамида на воспаление в почке, проводит сравнение с уже известными фактами о действии синаптамида на другие органы, а также предлагает возможный механизм его действия через нейтрофильный рецептор GPR110. Кроме того, в обсуждении

раскрывается связь системного воспаления и ОПП, сложность диагностики ОПП у новорожденных, а также обсуждаются защитные эффекты антибиотиков при сепсис-индуцированном ОПП как для клинических данных пациентов, так и для результатов экспериментов на новорожденных крысах. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и полученным результатам, обоснованы и корректно сформулированы.

Научная новизна результатов и обоснованность основных положений диссертации, выносимых на защиту

К значимым и новым достижениям автора можно отнести разработку оригинальной экспериментальной модели повреждения почки, основанной на фотоиндуцированном тромбозе сосудов. Повреждение почечной ткани в данной модели инициируется световой активацией молекул фотосенсибилизатора Бенгальского розового. Автор не только впервые предложил использовать принцип фототромбоза для индукции повреждения почки, представил методический протокол новой модели, но и всесторонне охарактеризовал развивающийся в почке очаг повреждения. Кроме того, была продемонстрирована возможность регулировать размер очага повреждения, а также добиться выраженного ОПП, которое можно выявить с помощью конвенциональных маркеров. Также впервые было изучено влияние предварительной терапии синаптамидом на ишемически/реперфузионное повреждение почки и продемонстрирован ее противовоспалительный эффект при ОПП, что выражалось в снижении продукции и экспрессии генов провоспалительных цитокинов. Кроме того, раскрыты аспекты механизма действия синаптамида и показана роль рецептора GPR110 на нейтрофилах, который еще недавно считался орфанным. Наконец, проведено исследование клинических данных пациентов и предложены антибиотики, усугубляющие ОПП, или, наоборот, снижающие тяжесть ОПП у новорожденных пациентов с сепсисом. Кроме того, впервые показано, что однократное введение гентамицина

новорожденных крысам снижало тяжесть ОПП, вызванного введением липополисахарида.

Выводы, положения и рекомендации, предложенные к защите, логично и последовательно изложены, отражают результаты, представленные в диссертации. Экспериментальные данные обработаны с применением корректных статистических методов, выборка животных во всех экспериментах достаточна. Автореферат полно и адекватно передает содержание диссертационной работы и оформлен в соответствии с требованиями.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационная работа расширяет представления о механизмах, вовлеченных в развитие ОПП, вызванного ишемией/реперфузией или системным воспалением. Новая экспериментальная модель почечного повреждения на основе фототромбоза открывает новые возможности для изучения процессов, происходящих в почке при ишемии, что делает её ценным инструментом для дальнейших исследований. Кроме того, изучение влияния синаптамида на воспалительный ответ в почке при ишемии/реперфузии раскрывает новые аспекты воспаления и его влияния на тяжесть ОПП, что способствует углублению знаний о потенциальных мишенях для нефропротекции.

С практической точки зрения, полученные результаты могут быть полезны для разработки новых подходов к профилактике и лечению ОПП. Экспериментальная модель на основе фототромбоза может быть использована для тестирования новых фармакологических препаратов, направленных на защиту почек от ишемии. Влияние синаптамида на воспалительный процесс указывает на его возможное использование в другом терапевтическом режиме в качестве нефропротективного агента в клинической практике. Результаты исследования влияния антибактериальной терапии на ОПП у новорождённых, развивающееся при системном

воспалении, имеют прямое прикладное значение для неонатологии, так как выявляют более предпочтительные антибиотики, снижающие тяжесть ОПП, и указывают на необходимость осторожного применения некоторых антибиотиков и корректировку курса терапии у данной группы пациентов.

Достоверность результатов исследования

Достоверность результатов исследования подтверждается продуманным планированием экспериментов, использованием достаточной выборки животных, применением современных и актуальных методик, полностью соответствующих поставленным цели и задачам работы. Анализ данных выполнен с применением адекватных статистических методов и современного программного обеспечения, что обеспечивает точность интерпретации результатов. Научные положения и выводы логично вытекают из задач исследования. Материалы, полученные диссертантом, опубликованы в 8 статьях в рецензируемых научных журналах, а также были изложены в 8 тезисах и обсуждены на международных конференциях.

Замечания и вопросы к диссертации

В ходе прочтения диссертационного исследования возникли ряд небольших комментариев и вопросов:

1. Поскольку автор использовал несколько критериев для статистической обработки данных и в ряде случаев не указан вид статистической обработки непосредственно в подписях под графиком, на котором эти данные представлены, то не ясно как осуществлялся в этих случаях анализ данных. Кроме того, количество животных в исследуемых группах очень вариабельно, доходя до $n=3$, с чем это было связано?

2. В представленной работе показано, что в присутствие синаптамида экспрессия мРНК рецептора GPR110 повышается, каков предположительный механизм данного изменения?

3. Известно, что метод фотоиндуцированной ишемии имеет ряд особенностей в сравнении с другими моделями ишемического повреждения. В связи с этим, для каких патологических изменений почек больше подходит предложенная и разработанная автором модель.

Считаю необходимым отметить, что перечисленные выше замечания не влияют на научную ценность диссертационной работы, имеющей практическое и фундаментально-научное значение.

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа посвящена актуальной проблеме, выполнена на высоком методическом уровне и обладает несомненной научной новизной. Таким образом, можно заключить, что диссертация Брезгуновой Анны Александровны на тему «Изучение механизмов острого почечного повреждения и подходов к нефропротекции при ишемии почки и системном воспалении» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных» (по биологическим наукам), а именно направлению «Исследование закономерностей физиологических процессов и функций отдельных систем и органов организма человека и животных разных таксонов в норме и эксперименте», а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Брезгунова Анна Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных».

26.11.2024

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник лаборатории общей
физиологии и регуляторных пептидов кафедры
физиологии человека и животных биологического
факультета Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московского государственного университета имени
М.В. Ломоносова»

Горбачева Любовь Руфэлевна

Контактные данные:

тел.: e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.00.13 – физиология

Адрес места работы:

119234, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, с.12

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова», биологический факультет, кафедра физиологии человека и
животных

Тел.: e-mail: