

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 направлена на исследование механизмов, вовлеченных в развитие острого почечного повреждения (ОПП), а также поиск перспективных методов терапии данного заболевания. Актуальность данной диссертационной работы обусловлена высокой распространенностью ОПП и развитием угрожающих жизни состояний, например, развитием хронической болезни почек. ОПП значительно ухудшает прогноз для пациентов с сопутствующими патологиями и в настоящий момент не имеет адекватных методов лечения. ОПП развивается вследствие различных патологических состояний, включая ишемию/реперфузию и системное воспаление. При этом ясно, что раскрытие механизмов повреждения почек различного генеза является важным как с точки зрения фундаментальной науки, так и клинической практики.

Исследование механизмов, вовлеченных в индукцию ОПП, на различных экспериментальных моделях, включая новую модель фотоиндуцированного тромбоза почки, позволяет глубже раскрыть особенности патогенеза заболевания. Тестирование терапевтических стратегий, таких как модуляции воспаления, полезно не только для выявления новых нефропротекторных подходов, но и для более глубокого понимания механизмов ОПП. Так, представленные в работе оценка влияния противовоспалительного соединения синаптамида и эффекты антибиотиков, представляют важное значение для разработки терапевтических стратегий и улучшения клинического исхода у пациентов с риском развития ОПП.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа написана по традиционному плану и состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, разделов материалы и методы, результаты, обсуждения, выводов, заключения, списка используемых сокращений и списка цитируемой литературы, включающего 216 ссылок на публикации, 2 из которых – на русскоязычные издания. Работа изложена на 156 страницах и содержит 36 рисунков.

В обзоре литературы последовательно и достаточно подробно описаны современные представления об общих вопросах острого повреждения почек, механизмах, вовлеченных в патогенез ОПП с акцентом на роль воспаления, экспериментальные модели ОПП и модель фототромбоза мозга, которая и стала основой для разработки новой модели повреждения почек, также описаны эффекты исследуемого вещества синаптамида, уже известные на текущий момент для других органов.

Глава «Материалы и методы исследования» написана очень подробно и содержит описание схемы экспериментов с информативными иллюстрациями, подробно описаны все используемые в работе методики.

В главе «Результаты» автор последовательно описывает данные, полученные в трех больших блоках экспериментов, посвященных характеристике новой экспериментальной модели, влиянию терапии синаптамидом на ишемически/реперфузионное ОПП, а также действию антибиотиков на ОПП, ассоциированное с системным воспалением. В «Обсуждении» автор подробно анализирует полученные в работе экспериментальные данные, сравнивая их с уже имеющимися в научной литературе фактами. Обсуждаются возможные механизмы, которые могут лежать в основе фототромбоз-индуцированного ОПП, а также проводится сравнение с общепризнанной моделью ишемии/реперфузии почки. Подробно анализируются полученные данные по исследованию синаптамида, обсуждается связь этих эффектов с ключевыми воспалительными реакциями в ишемизированной почке, обсуждаются возможные варианты сигнальных путей, вовлеченных в эффекты синаптамида, а также предлагается схема механизма его действия. Обсуждаются возможные иммуномодулирующие

эффекты антибиотиков при ОПП, вызванном сепсисом. Выводы, сделанные в работе, соответствуют поставленным задачам и полученным результатам, обоснованы и корректно сформулированы.

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

Диссертационное исследование Брезгуновой А.А. обладает несомненной научной новизной. Принцип фотоиндуцированного тромбоза впервые был применен для индукции острого почечного повреждения. Было показано, что при фототромбозе почки, вызванном световой активацией фотосенсибилизатора Бенгальского розового, в органе развивается очаг повреждения с выраженным нарушением морфологии почечной ткани, изменением проницаемости сосудов, гибелью клеток. Изменения, происходящие в очаге повреждения, были всесторонне охарактеризованы, чего не было продемонстрировано ранее в других работах. Кроме того, впервые проведено исследование влияние этаноламида докозагексаеновой кислоты синаптамида на воспаление, возникающее в почке вследствие ишемии/реперфузии. Было показано, что предварительная терапия синаптамидом приводила к выраженному противовоспалительному эффекту в почке, который реализуется через рецептор GPR110 на нейтрофилах. Также в работе оценивалось влияние терапии антибиотиками на ассоциированное с системным воспалением ОПП. При анализе клинических данных новорожденных пациентов впервые было показано, что применение некоторых антибиотиков снижало тяжесть ОПП на фоне сепсиса, что также было продемонстрировано автором в экспериментальных моделях на животных.

Выводы, положения и рекомендации, выносимые на защиту, понятно изложены и полностью отражают приведенные в тексте диссертации результаты. Полученные экспериментальные данные обработаны с использованием корректных статистических методов, выборка животных во всех экспериментах достаточна. Автореферат дает полное представление о сути диссертационной работе и оформлен надлежащим образом.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования заключается в углублении знаний о механизмах повреждения почек, возникающего вследствие ишемии и системного воспаления. Понимание процессов, лежащих в основе индукции и прогрессирования повреждения, создаёт основу для разработки стратегий терапии не только острого почечного повреждения, но и других патологий, ассоциированных с нарушением кровоснабжения, таких как инсульт и инфаркт. Кроме того, в ходе работы раскрыты особенности протекания сепсиса у новорожденных и его негативное влияние на функцию почек, а также протестировано действие широко используемых антибиотиков. Результаты работы способствуют развитию фундаментальной науки, раскрывая аспекты клеточных и молекулярных механизмов ишемического и септического повреждения почек.

С практической точки зрения результаты работы могут быть полезны для разработки перспективных методов терапии ОПП и других состояний, связанных с ишемией и сепсисом. Понимание механизмов развития заболевания, а также тестирование потенциальных нефропротекторных соединений могут привести к созданию новых перспективных методов лечения таких социально значимых заболеваний как острое почечное повреждение и, соответственно, позволят снизить число пациентов с неблагоприятным исходом – хронической болезнью почек. Практическое значение также заключается в представлении новой экспериментальной модели ОПП, которая может способствовать раскрытию новых звеньев патогенеза заболевания, а также может быть использована исследователями для тестирования нефропротекторных соединений. Клиническая значимость заключается в выявлении антибиотиков, которые усугубляют и облегчают тяжесть ОПП, вызванного системным воспалением, у новорожденных, что может быть использовано для корректировки антибактериальной терапии. Кроме того, данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, показали противовоспалительные свойства синаптамида, то есть данное соединение может быть рекомендовано для проведения дальнейших испытаний с целью снижения воспалительной реакции при заболеваниях почек.

Достоверность результатов исследования

Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы и отражают полученные результаты. Достоверность полученных данных обеспечивается наличием достаточной для получения статистически значимых результатов выборки животных в экспериментах. Данные обработаны корректно, проведен соответствующий статистический анализ. Достоверность представленных результатов обусловлена использованием современных и адекватных для решения поставленных задач экспериментальных методов.

Замечания и вопросы к диссертации

Несмотря высокую оценку диссертационного исследования Брезгуновой А.А., имеется ряд замечаний и вопросов, носящих дискуссионный характер и не снижающих ценности проведенной автором работы.

1. Диссертация и автореферат написаны в некоторой степени небрежно: помимо существенного количества опечаток, в тексте часто пропущены целые слова в предложениях, например, слово «белок» в расшифровке сокращения L-FABP на стр. 5, во фразе «Во-вторых, фототромбоза высоко...» на стр. 116-117. Кроме того, сокращения, представленные в списке не соответствуют используемым в тексте. Так в списке сокращений – «АТР», а на стр. 22 и далее по тексту употребляется «АТФ». АТР встречается лишь на рис. 36, да и там расшифрован в подписи к рисунку. Такие несоответствия имеют место и в других терминах, например на стр. 93 экспериментальная группа в тексте обозначена «I/R», а на рисунке и в подписи – «И/Р». Другие примеры:

– на стр. 125 ссылки на рисунок 19c и 19d, хотя на самом рисунке панели обозначены по алфавиту кириллицей;

– в автореферате отсутствует описание панели «Г» в подписи к рисунку 2, хотя оно имеется в диссертации (рис. 6).

2. Среди других недочетов, связанных с оформлением работы, стоит отметить наличие неудачных фраз. На стр. 25 – «Клетки, подвергшиеся более тяжелому или летальному повреждению, подвергаются апоптозу или некрозу, что приводит к гибели клетки». Апоптоз и некроз и есть способы гибели

клетки. На стр. 28 – «...вредных патогенов...». Патогены по определению вредные. Стр. 44 – «...приводят к снижению проницаемости митохондрий, активных форм кислорода и воспалительной реакции». Здесь вообще не ясно, о чем идет речь.

В совокупности все эти особенности рукописи несколько затрудняют восприятие интересного и глубокого исследования.

3. Раздел «Материалы и методы» в автореферате занимает 5 страниц. Но в автореферате почти отсутствует обсуждение полученных результатов и сопоставление их с данными литературы. При этом в тексте диссертации обсуждение результатов является весьма полным и может быть отдельно опубликовано в виде обзорной статьи. На мой взгляд, было бы более уместно включить ключевые моменты из раздела Обсуждение в текст автореферата в ущерб подробному описанию применяемых методов.

4. Задача 4 сформулирована так, как будто автору заранее известен результат по задаче 3, а именно противовоспалительное действие синаптамида при ишемии/реперфузии почки.

5. Раздел 4.1.1. При подборе протокола освещения лазером были использованы времена 2, 5 и 10 минут и далее выбрано для последующих экспериментов максимальное время освещения – 10 минут. Возможно ли, что при дальнейшем увеличении времени освещения лазером, можно будет получить более оптимальные параметры ОПП с точки зрения воспроизводимости и выраженности эффекта фототромбоза?

6. Основываясь на полученных экспериментальных данных автор делает вывод о реализации эффекта синаптамида через рецептор GPR110. Однако ингибиторный анализ не был проведен (по-видимому, из-за отсутствия селективного блокатора этого рецептора). Возможно ли нерецепторное действие синаптамида? В целом известно, что синаптамид может проникать в клетки и автор на стр. 123 обсуждает пути метаболизма этого соединения со ссылкой на работу, выполненную на макрофагах.

7. В тексте имеется противоречие: на стр. 93 написано, что «...лечение синаптамидом не уменьшало нарушения функции почек...», что в целом подтверждается данными на рис. 23. Однако в разделе Обсуждение на стр. 127

автор пишет «...препарат улучшал функцию почек...». Было ли в итоге улучшение? Было ли вообще оценено статистически различие между группами «И/R» и «И/P+синаптамид».

8. В своей работе соискатель использует несколько моделей ОПП – вновь разработанный способ с фототромбозом, И/P с наложением микрососудистого зажима и эндотоксинемическое ОПП. Автор собирает различные данные о наблюдаемых гистологических повреждениях почки, об изменении различных маркеров в моче и в крови экспериментальных животных. Было бы уместно провести систематическое сравнение используемых моделей ОПП по этим экспериментально оцениваемым параметрам в виде краткого обобщения, например, таблицы, где были бы ёмко сведены воедино особенности, а также достоинства и недостатки каждого из этих методов.

Заключение

Следует еще раз отметить, что указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа Анны Александровны Брезгуновой является актуальным исследованием в области физиологии почек, выполнена на высоком методическом уровне и вносит существенный научный вклад в представления о механизмах острого почечного повреждения. Считаю, 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 диссертационным исследованиям на соискание степени кандидата наук. 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, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5 .5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных механизмов нейропатологий Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

Бережнов Алексей Валерьевич

17.03.2025

Контактные данные:

тел.: , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

1.5.2. – биофизика, 1.5.22. – клеточная биология

Адрес места работы:

142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, д. 3,
Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделения ФГБУН «Федеральный исследовательский центра «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»

Алексей Валерьевич Бережнов

Ученый секретарь И