

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук, доцента кафедры анатомии человека Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Гуровой Ольги Александровны о научно-практической ценности диссертационной работы Кашина Александра Дмитриевича на тему «Морфофункциональные особенности эндотелия лимфатического капилляра, лимфатического протока и краевого синуса лимфатического узла», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.01 – Анатомия человека

Актуальность темы исследования. Пути оттока лимфы в начальных отделах лимфатического русла, как одно из звеньев системы микроциркуляции, играют важную роль в жизнедеятельности организма, создавая необходимые условия для метаболизма на тканевом уровне. Ключевую роль в нормальном функционировании путей оттока лимфы играет эндотелий. Появление новых, более совершенных методов исследования позволяет заглянуть в самые тонкие, интимные структуры лимфатических сосудов с целью изучения как особенностей их строения, так и функционирования на клеточном и даже внутриклеточном уровне. Подобные исследования открывают дорогу новым методам диагностики и лечения многих заболеваний, в частности сердечно-сосудистой, пищеварительной систем, включая онкологические заболевания. Вместе с тем, их можно рассматривать применительно к разработке методов таргетной доставки лекарственных веществ по путям оттока лимфы.

Поставленная соискателем цель исследования – выявить характерные особенности эндотелия в разных отделах лимфатического русла и на основе этого морфологически обосновать механизмы транспорта макромолекул через эндотелиальный пласт, - лежит именно в этом направлении. А четко сформулированные задачи исследования позволяют соискателю эту цель успешно достигнуть.

Знаменательно, что в этом году Научное медицинское общество анатомов, гистологов и эмбриологов проводит конференцию, посвященную 110-летию со дня рождения академика РАМН, лауреата Государственной премии СССР, профессора В. В. Куприянова, - ученого, стоявшего у истоков изучения системы микроциркуляции и, конкретно, микролимфологии.

Научная новизна исследования. Впервые с применением комплекса методов высокоразрешающей электронной микроскопии проведен сравнительный анализ ультраструктуры эндотелиальных клеток лимфатического капилляра и лимфатического протока, краевого синуса лимфатического узла, в результате чего получены новые данные о структуре и низкой функциональной активности комплекса Гольджи в них, а также показаны особенности организации межэндотелиальных соединений. Автор впервые доказывает наличие в лимфатическом капилляре кишечной ворсинки тонкой кишки крысы «синусоидного» межэндотелиального соединения, и получает новые морфологические доказательства транспорта макромолекул в просвет лимфатического капилляра через эти соединения. Подобные «синусоидные» соединения эндотелиоцитов были выявлены ранее в лимфатических капиллярах трахеи. Новыми являются данные об отсутствии трансцитоза хиломикрон диаметром 30-100 нм в лимфатическом капилляре кишечной ворсинки крысы при исключении избыточной липидной нагрузки на слизистую оболочку тонкой кишки. Также впервые получены данные о фагоцитозе хиломикрон диаметром 30-100 нм макрофагами в краевом синусе верхнего брыжеечного лимфатического узла крысы после липидной нагрузки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Диссертационная работа А. Д. Кашина имеет несомненную научную ценность, поскольку на клеточном уровне позволяет сравнить строение эндотелия на разных участках лимфатического русла, а также дать морфологическое обоснование путям транспорта макромолекул через эндотелиальный пласт. Полученные данные могут использоваться в учебном процессе морфологических кафедр высших и средних учебных заведений.

Практическая значимость результатов исследования связана с тем, что данные о механизмах транспорта хиломикрон диаметром 30-100 нм будут способствовать решению проблем таргетной доставки лекарственных веществ по лимфатическим путям, а также контроля миграции иммунных клеток, развития и лечения опухолей. Полученные результаты способствуют пониманию клеточных механизмов развития многих заболеваний, в частности атеросклероза, ожирения, лимфедемы и др.

Обоснованность и достоверность полученных результатов. В диссертационной работе А. Д. Кашиным поставлена четкая цель и задачи исследования, в соответствии с которыми сделан выбор объекта и методов

исследования. Лабораторные животные (26 крыс и 5 кроликов) линейные, количество полученного экспериментального материала достаточное, что способствует возможности подтвердить результаты в других опытах. Для изучения тканевых образцов применялись современные методы исследования: трансмиссионная электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, электронная томография и морфометрический анализ; последовательность действий по забору, фиксации образцов и их анализу описаны пошагово; проведена статистическая обработка полученных данных. Таким образом, использованные методы исследования, достаточный объем выборки, анализ данных, проведенный с применением современных методов вариационной статистики, не вызывает сомнений в достоверности полученных в работе результатов. Положения, выносимые на защиту, и выводы полностью обоснованы.

Структура и объем диссертации. Диссертация включает 125 страниц, написана хорошим литературным языком и четко структурирована по главам и разделам внутри глав. Состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Иллюстрирована 18 рисунками (из которых 2 гистограммы и 16 подборок из 2-6 фотографических изображений) и 6 таблицами. В списке литературы 207 источников, из которых 169 зарубежных, в подавляющем большинстве опубликованных за последние 15 лет.

В разделе «Введение» обоснованы актуальность темы исследования, степень ее разработанности, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Цель и задачи исследования сформулированы четко, указаны методология исследования и положения, выносимые на защиту. Приведены сведения об апробации, степени достоверности полученных научных данных и их внедрении в учебный процесс двух ВУЗов. Представлены сведения о личном вкладе автора в проведенное исследование, часть наблюдений по которому осуществлялась совместно с другими учеными, о чем указано в совместных публикациях и протоколе этического комитета. Полученные результаты исследования опубликованы в 10 научных работах, из которых 2 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 1 в журнале международной информационной базы данных Scopus.

Глава 1 посвящена обзору литературы по теме исследования. Подробно, на основе результатов современных исследований отечественных

и зарубежных ученых, рассматривается строение сосудистого эндотелия, отличающегося гетерогенностью в различных органах и тканях, особенности формирования в эмбриогенезе лимфатического эндотелия и (в отдельных разделах главы) морфофункциональные особенности эндотелия лимфатического капилляра, эндотелия лимфатических сосудов, стволов и протоков и эндотелия лимфатического узла. В заключении обзора указывается на недостаточно изученные вопросы, касающиеся морфологических данных о разных фенотипических формах лимфатического эндотелия, строения межклеточных контактов и механизмов переноса через эндотелиальный монослой макромолекул. Не изучался транспорт хиломикрон по синусам лимфатических узлов, что важно для развития направления таргетной терапии, использующей липоидные частицы в качестве молекулы-носителя.

Глава 2 описывает материал и методы исследования. В ней обоснован выбор объектов изучения: кишечной ворсинки и краевого синуса верхнего брыжеечного лимфатического узла крысы и грудного протока кролика; хиломикрона в качестве маркерной молекулы для изучения проницаемости эндотелиального монослоя. Подробно описывается процесс подготовки образцов для исследования методами электронной микроскопии, электронно-микроскопической томографии; морфометрический анализ изображений; статистический анализ полученных данных.

Глава 3 содержит результаты исследования, в ней подробно описывается строение эндотелия лимфатического капилляра в кишечной ворсинке тонкой кишки крысы, ультраструктура эндотелия краевого синуса верхнего брыжеечного лимфатического узла крысы и ультраструктура эндотелия грудного протока кролика. Материал излагается последовательно, хорошо иллюстрирован многочисленными микрофотографиями, гистограммами и таблицами. Качество изображений высокое, обозначение образований четкое, разрешение позволяет увидеть мельчайшие детали строения эндотелия, клеточных контактов, органелл (митохондрий, цистерн эндоплазматического ретикулома, комплекса Гольджи). Подобные иллюстрации делают доказательным изложение результатов. В таблицах приводятся сравнительные данные по всем изученным показателям в эндотелии лимфатического капилляра, краевого синуса лимфатического узла, грудного протока: частоте встречаемости адгезионных соединений разной формы, длине контактирующих поверхностей, структур комплекса Гольджи и т.д. Статистическая обработка подтверждает достоверность полученных данных.

Глава 6 посвящена обсуждению результатов. Здесь на новом уровне проводится анализ полученных данных и сопоставление их с результатами других исследований. Много внимания автор уделяет рассмотрению строения «синусоидного» контакта эндотелиоцитов, состоящего из точечного адгезивного соединения и находящегося на некотором расстоянии от него плотного контакта. Поскольку этот вид соединения эндотелиальных клеток в лимфатическом капилляре кишечной ворсинки встречается чаще всего и имеет закономерный характер расположения, автор делает вывод, что «синусоидные» контакты могут функционировать как внутристеночные клапаны, в норме пропускающие жидкость и молекулы в одном направлении – в просвет лимфатического капилляра. Другой обсуждаемый объект – комплекс Гольджи. Анализ его строения показал морфологические признаки низкой функциональной активности и малую вероятность трансцитоза макромолекул в исследуемых образцах.

Каждый раздел обсуждения, касающийся морфологических и функциональных особенностей эндотелия лимфатического капилляра, краевого синуса лимфатического узла и грудного протока заканчивается лаконичным обобщением, что очень важно.

Заключение обобщает всю информацию, полученную в результате исследования, проанализированную и сопоставленную с имеющимися данными литературы. Заключение подводит к 6 выводам.

Выводы и практические рекомендации, приводимые в диссертации А.Д.Кашина, четко сформулированы, обоснованы, соответствуют поставленным задачам и логически вытекают из результатов исследования. Их достоверность сомнений не вызывает.

Публикации по теме диссертации. По теме исследования опубликованы 10 научных работ: 2 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 1 в журнале международной информационной базы данных Scopus.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Автореферат содержит основные положения диссертации А. Д. Кашина, отражает актуальность, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, положения, выносимые на защиту, апробацию результатов. В автореферате приводится основное содержание работы: подробное описание материала и методов исследования, результаты исследования и их обсуждение по каждому из изученных

объектов. Описываются особенности строения эндотелия лимфатического капилляра кишечной ворсинки крысы, краевого синуса верхнего брыжеечного лимфатического узла крысы, грудного протока кролика, а также особенности транспорта липидов через эндотелиальный монослой этих объектов. В конце приводятся выводы, практические рекомендации, список работ автора, опубликованных по теме диссертации, а также подборка из 13 микрофотографий, демонстрирующих структуры эндотелия.

Вопросы и замечания

Общая оценка представленной работы положительная. Диссертационная работа отличается внутренним единством, логикой изложения и свидетельствует о хорошем владении автором материалом.

Замечания:

1. В названии диссертации можно было уточнить в конце: «(экспериментальное исследование)».
2. Нумерации таблиц и рисунков последовательная, но ссылки на них беспорядочны, что затрудняет их поиск. Например, табл. 1 на с.39 (расположена после ссылки на нее на с.38). Следующая ссылка на с.50 сразу на табл. 4, которая находится на с. 74. Подобная ситуация со всеми таблицами и большинством рисунков.
3. Для рисунков принято сокращение «Рис.»
4. В таблицах 3, 6 не указаны единицы измерений показателей.

Вопросы:

1. Не совсем ясно, как проводился морфометрический анализ:
 - измерялись длина, ширина, средняя высота клетки?
 - как, при каком увеличении, измерялся курвиметром показатель длины контактирующих поверхностей непосредственным измерением на электронограммах (с. 44 диссертации)?
 - «частота встречаемости плотного контакта оценивалась как высокая при его регистрации более, чем в 50% случаев...Низкая... при встречаемости не более, чем 1-2 раза» (с.44). Сколько контактов составляют 50%? И какая оценка для того, что меньше 50%, но больше 1-2?
2. Чем обоснованы временные интервалы 60 мин после введения масла, 45 мин и 60 мин после введения химуса для получения материала тонкой кишки и брыжеечных узлов у крыс при исследовании транспорта липидов?
3. Возможно ли экстраполировать результаты вашего исследования, полученные у лабораторных животных, на человека?

Заключение. Диссертационная работа Александра Дмитриевича Кашина на тему «Морфофункциональные особенности эндотелия лимфатического капилляра, лимфатического протока и краевого синуса лимфатического узла» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача по выявлению морфофункциональных особенностей эндотелия в разных отделах лимфоносных путей. Научная новизна, достоверность полученных данных, практическая значимость результатов исследования позволяют считать, что диссертационная работа А. Д. Кашина полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 20.03.2021 № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Александр Дмитриевич Кашин заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.01 – Анатомия человека.

Официальный оппонент

кандидат биологических наук,
доцент кафедры анатомии человека
Медицинского института Федерального
государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования

«Российский университет
дружбы народов»

Адрес: 107392, Москва,

ул. Б. Черкизовская, д.9, корп.1, кв.161;

e-mail: gurova-oa@rudn.ru, телефон: +7(909) 698-12-78



Ольга Александровна Гурова

Подпись доцента кафедры анатомии человека Медицинского института
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» О. А. Гуровой
заверяю:

Ученый секретарь

Ученого совета Медицинского института

ФГАОУ ВО «РУДН»

к.фарм.н., доцент

26.04.2022 г.



Т.В. Максимова