

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Гениной Элины Алексеевны на диссертационную работу Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный диссертационный Совет 24.2.340.06 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского, по специальности 1.5.2 - Биофизика.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Родимовой С.А. посвящена выявлению характерных признаков патологии печени и регенераторного потенциала печени с использованием новейших методов многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии. На сегодняшний день, ежегодно во всём мире регистрируется более миллиона новых случаев первичных и вторичных опухолей печени. Наиболее распространённым и одновременно наиболее эффективным методом лечения по-прежнему остаётся хирургическая резекция. Несмотря на постоянное совершенствование методик и подходов к предоперационной оценке объёма и функции печени, сохраняется высокий риск развития печёночной недостаточности после проведения резекции, что связано в первую очередь с наличием сопутствующей печёночной патологии.

Решение о допустимом объёме резекции печени чаще всего принимается на основании данных биохимического анализа крови, результатов гистологических и иммуногистохимических исследований, а также результатов лучевой диагностики (УЗИ, КТ, МРТ и эластография). Однако ни один из этих методов не позволяет заранее оценить регенераторный потенциал печени. При этом ключевым маркером состояния гепатоцитов считается их энергетический метаболизм. Современные технологии многофотонной микроскопии с применением ГВГ и FLIM дают возможность не только визуализировать ткань печени в режиме реального времени, но и детально исследовать метаболические процессы, в том числе оценивать гликолиз и окислительное фосфорилирование. Эти данные позволят определять стадию сопутствующей патологии, оценить качество печени и прогнозировать её способность к восстановлению. Таким образом, актуальность проведенной научно-исследовательской работы не вызывает сомнений.

Достоверность и обоснованность результатов работы

В диссертационной работе автор проанализировал и обобщил результаты собственных исследований, выполненных при строгом соблюдении корректных методик и

подходов. Полученные данные подверглись тщательному статистическому анализу, позволяющему дать объективную оценку результатов. Основные научные положения и выводы диссертации представлены логично и имеют надёжное обоснование, а автореферат в полной мере соответствует содержанию работы.

Научная новизна работы

В представленной работе впервые предложена методика, основанная на комплексном применении методов многофотонной микроскопии. Кроме того, автором подобраны оптимальные параметры для анализа свежих образцов печёночной ткани, при которых можно корректно проводить оценку изменений энергетического метаболизма клеток печени. Разработанная методика позволила оценить регенераторный потенциал печени как в норме, так и на различных стадиях сопутствующей патологии (стеатоза и фиброза). Также впервые с применением разработанного подхода были определены характерные особенности структуры ткани печени на разных стадиях стеатоза и фиброза и на разных этапах регенерации в норме и на фоне сопутствующей патологии. Разработанная методика позволит проводить предиктивную оценку восстановления печени интраоперационно перед проведением резекционных вмешательств.

Практическое значение результатов работы

Практическая значимость полученных результатов обусловлена получением в ходе исследования новых фундаментальных сведений об особенностях состояния печени и метаболического статуса гепатоцитов в норме, при патологии, и при регенерации на фоне патологии. Разработанные подходы к оценке состояния печени и метаболизма гепатоцитов с использованием многофотонной микроскопии в разных режимах, включающих флуоресцентную, ГВГ и FLIM микроскопию, которые потенциально могут применяться в клинической практике для интраоперационной экспресс-оценки печени при планировании резекции. Полученные результаты также могут быть включены в специализированные курсы и лекции по биофизике, биомедицине, биохимии, патофизиологии, гепатологии и применены при разработке новых препаратов, направленных на коррекцию метаболического статуса гепатоцитов и повышения эффективности регенерации.

Личный вклад автора

Автором лично проведён комплекс экспериментальных исследований, в том числе моделирование регенерации и патологии печени, а также выполнен анализ всех

собранных данных. Разработана методика оценки состояния печени, основанная на многофотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ и FLIM микроскопии. Проведён подбор оптимальной модели аппроксимации кривой затухания флуоресценции НАД(Ф)Н, а также условий, обеспечивающих корректный анализ данных FLIM микроскопии. Автор принимал непосредственное участие в обсуждении результатов и в подготовке научных статей и докладов на научных конференциях.

Печатные работы, опубликованные по материалам диссертационной работы

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, индексируемых Web of Science, Scopus, входящих в перечень ВАК; 33 публикаций в сборниках материалов научных конференций.

Анализ основного содержания работы

Структура диссертации выстроена по классическому плану и включает введение, обзор литературы, детальное описание использованных в работе материалов и методов, результаты исследований и их анализ, заключение, выводы, а также перечень цитируемых литературных источников. Во введении обоснована значимость рассматриваемой темы, чётко сформулированы цель и задачи исследования, приведён перечень основных выводов, демонстрирующих её научную новизну и практическую значимость, приведен перечень положений, выносимых автором на защиту.

Литературный обзор посвящён ключевым аспектам регенерации печени, методам оценки её состояния, роли НАД(Ф)Н в энергетическом обмене клеток, а также принципам, лежащим в основе многофотонной, ГВГ и FLIM микроскопии.

Во второй главе детально рассмотрены объекты исследования, используемые реактивы и приборное оснащение. Кроме того, представлены методики, обеспечившие проведение экспериментальной части работы, в том числе подробные описания схем экспериментов на животных моделях.

В третьей главе приведены результаты проведенных исследований и их обсуждение. В ходе проведённого исследования была разработана и экспериментально обоснована методика, основанная на мультифотонной микроскопии в разных режимах (флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия) для выявления характерных признаков состояния печени и оценки её регенераторного потенциала при различных патологических изменениях (стеатоз, фиброз). В работе были определены оптимальные условия для микроскопического исследования *ex vivo* образцов печени. Также была подобрана адекватная модель аппроксимации кривой затухания флуоресценции НАД(Ф)Н,

что обеспечило достоверный анализ времён жизни флуоресценции связанной формы НАДН (a2) и НАДФН (a3) — ключевые параметры метаболического статуса гепатоцитов и маркёры эффективности регенерации. На основе разработанной методики были получены качественные и количественные критерии эффективности регенерации и степени патологии. В норме и при регенерации наблюдались высокие исходные значения a2 и a3, а также выраженный рост данных параметров на 3 день регенерации. При стеатозе и регенерации на фоне стеатоза рост a2 и a3 на 3 день регенерации отсутствовал на всех стадиях патологии. При фиброзе и регенерации на фоне фиброза (стадия F1 по Metavir) также не было достоверного роста a2 и a3, однако на стадии F2–F3 по Metavir значения a3 увеличивались на 3 день регенерации, при этом значения a2 не отличались от значений до индукции регенерации. Важнейшим изменением печени при патологии являлось появление зон со сниженным сигналом флуоресценции НАД(Ф)Н и появление зон скопления коллагена, что было выявлено в режимах флуоресцентной и ГВГ микроскопии.

Полученные результаты открывают перспективы для использования данного подхода для интраоперационной оценки наличия и стадии патологии печени, а также оценке ее регенераторного потенциала. Результаты диссертационной работы могут служить основой для разработки новых терапевтических стратегий, нацеленных на коррекцию метаболического статуса гепатоцитов и повышение регенераторного потенциала печени.

В заключительной части работы автор в сжатой форме излагает ключевые этапы исследования и суммирует полученные результаты, сопоставляя их с имеющимися литературными сведениями.

Выводы достоверно отражают полученные данные и в полной мере соответствуют заявленным целям и задачам исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации и автореферата

Диссертация Родимовой С.А. выполнена в соответствии с классическими требованиями. В обсуждении автор детально анализирует полученные результаты, сопоставляя их с данными мировой литературы, что позволяет сформировать целостное представление о проделанной работе и определить место полученных выводов в контексте современных исследований по данной проблематике.

Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях и съездах в России (Нижний Новгород, Москва, Сочи, Самара, Санкт-Петербург) и за рубежом (Турция, Греция), где 4 доклада были отмечены наградой за

лучшее выступление. По результатам работы опубликовано 11 научных статьи в журналах, индексируемых международными базами цитирования Web of Science и Scopus, и 33 тезиса в сборниках конференций. Проведенные исследования получили финансовую поддержку гранта РФФ.

Автореферат в полной мере отражает содержание ключевых разделов диссертации и представленные автором результаты. В нём изложены актуальность исследования, цели и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, а также описаны объекты и методы исследования, основные результаты работы и их обсуждение, заключение, выводы и перечень публикаций по теме диссертации.

Материал диссертации оставляет положительное впечатление, однако считаем нужным отметить и некоторые недостатки:

1. В работе автор определил, что при патологии печени появляются зоны со сниженным сигналом флуоресценции НАД(Ф)Н, однако, нет пояснения, с каким физическим механизмом автор связывает появление этих зон.

2. В списке литературы практически отсутствуют статьи, опубликованные позже 2020 г.

3. В диссертации отсутствует список публикаций автора, где изложены основные результаты работы.

4. В диссертационной работе встречаются орфографические и стилистические ошибки.

Высказанные замечания носят рекомендательный характер и ни в коей мере не снижают значимость полученных результатов.

Следует заключить, что диссертационная работа Родимовой Светланы Алексеевны «Флуоресцентная, ГВГ и FLIM микроскопия печени при патологии и регенерации», выполненная под научным руководством Загайновой Елены Вадимовны, доктора медицинских наук, член-корреспондента РАН является оригинальным законченным научным исследованием, выполненным на высоком теоретическом и методическом уровне.

По новизне полученных результатов, их фундаментальной и практической значимости диссертационная работа Родимовой С.А. соответствует требованиям действующей редакции «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а

её автор Родимова Светлана Алексеевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - Биофизика.

Профессор кафедры оптики и биофотоники
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г.
Чернышевского»,
д.ф.-м.н., доц. Генина Элина Алексеевна


Генина Э.А.

06.03.2025 г.

Адрес организации: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (СГУ)

Телефон: +7 (8452) 26 - 16 - 96

Сайт организации: <https://www.sgu.ru/>

