

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора

Е. С. Корниловой о научно-практической значимости диссертации

Казаковой Татьяны Евгеньевны на тему «**Морфофункциональная**

характеристика транспортного пути липидов из полости тонкой кишки

в собственную пластинку кишечной ворсинки (экспериментальное

исследование)», представленной к защите на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальностям

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (биологические

науки); 14.03.01 – Анатомия человека (биологические науки)

Актуальность темы исследования. Кишечное пищеварение, всасывание и секреция пищевых жиров лежат в основе поддержания липидного и энергетического гомеостаза организма. Известно, что нарушение липидного обмена, особенно на фоне повышенного потребления жиров и продуктов, богатых энергией, может служить причиной развития ожирения, а также ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы, дислипидемии, атеросклероза и др. Глубокое понимание процессов трансформации липидов в тонкой кишке может способствовать прогрессу в лечении указанных патологий. В последние годы, с развитием методов молекулярной и клеточной биологии, представления как о строении кишечной ворсинки, так и о механизмах всасывания липидов в тонкой кишке расширились. К настоящему времени описаны ключевые белки, участвующие в поглощении и внутриклеточном транспорте липидов, имеется достаточно полное представление о формировании хиломикронов, а также обозначены внутриклеточные структуры энтероцита, которые могут принимать участие в транскитозе жирных кислот.

Однако, целый ряд вопросов, связанных с механизмами всасывания и транспорта липидов, остается неясным. Продолжаются дискуссии о механизме проникновения жирных кислот в энтероцит: путем диффузии,



эндоцитозом, обслуживаемом посредством мембранного переносчика; либо с помощью молекулярных транспортеров. Не описана роль межклеточных контактов энтероцитов в данном процессе; отсутствует однозначный ответ на вопрос о структурах и механизмах, формирующих транспортный путь и движение по нему липидов в энтероците; не установлен механизм выхода липидов из энтероцита в межклеточное пространство и их прохождения через базальную мембрану в собственную пластинку кишечной ворсинки.

Кроме того, большинство исследований таких сложных процессов, как поглощение и транспорт липидов, часто проводится на модельных объектах типа культивируемых клеток, лишенных только тканевой архитектуры, что может приводить к некорректной интерпретации получаемых результатов. В связи с этим исследования на препаратах тканей, полученных из нормально функционирующих организмов, имеет особое значение и несомненно, повышенную сложность. Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности диссертационного исследования Татьяны Евгеньевны Казаковой.

Научная новизна. В работе для изучения механизмов транспорта липидов впервые была использована экспериментальная модель, позволяющая исследовать максимально физиологическую пищевую нагрузку на эпителий тонкой кишки, введенную синхронно, что позволяет отслеживать последовательные стадии локализации липидного груза и ее изменения во времени. Применен комплекс современных электронно-микроскопических методов, в том числе электронная микроскопия высокого разрешения, электронно-микроскопическая томография, 3D-реконструкция. В результате проведен анализ ультраструктуры транспортного пути липидов через энтероцит кишечной ворсинки: показано строение эпителиального барьера тонкой кишки, морфологически обоснована модель транспорта липидов из ЭР в комплекс Гольджи, из комплекса Гольджи к базолатеральной части плазматической мембраны; через базальную мембрану эпителия кишечной ворсинки в просвет лимфатического

капилляра. Существенно, что электронно-микроскопическими методами доказано отсутствие эндоцитоза при транспорте липидов через апикальную часть плазматической мембраны в условиях низкой пищевой нагрузки. Морфологически доказана модель «насосного» механизма транспорта липидов из зоны пальцевидного контакта соседних энтероцитов в собственную пластинку кишечной ворсинки.

Научно-практическая значимость исследования. В диссертационной работе Татьяны Евгеньевны Казаковой получены новые данные, позволившие уточнить механизмы трансформации липидов в кишечнике, что может способствовать прогрессу в лечении ряда заболеваний, обусловленных нарушениями обмена липидов, путем создания экспериментальных моделей для тестирования лекарственных средств, обоснования новых методов лечения, интерпретации эффектов после применения лекарственных средств. Предложенная в работе экспериментальная модель может быть использована для последующего изучения механизмов транспорта липидов и жирорастворимых веществ, а также изучения влияния экзо - и эндогенных факторов на процессы всасывания липидов. Основные результаты диссертационного исследования могут быть включены в учебный процесс медицинских вузов и биологических факультетов университетов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и достоверность исследования. Целью работы являлось изучение ультраструктуры транспортного пути липидов из полости тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки и найти морфологическое обоснование механизмов их транспорта. Цель исследования, конкретные задачи и положения, выносимые на защиту, четко сформулированы. Анализ литературных источников позволил оценить степень изученности проблемы и ее актуальность. Библиография включает 295 источников, в том числе 10 отечественных и 285 иностранных. Выбранные методы исследования современны и адекватны поставленным задачам. Объем исследуемого

материала достаточен для обеспечения статистической достоверности результатов $p \leq 0,05$. Полученные данные проиллюстрированы микрофотографиями отличного качества и таблицами. Выводы обоснованы и соответствуют задачам исследования.

При общей высокой оценке проделанной работы, хочется высказать ряд замечаний.

1. Работа написана хорошим языком и легко читается, содержит минимальное количество опечаток. Однако вызывают вопросы некоторые терминологические моменты. Так, под «спектральной» сетью автор явно подразумевал спектриновую.

Также нельзя согласиться с тем, что мембранные SNARE-белки, ключевые игроки при формировании пор слияния при везикулярном транспорте, являются растворимыми белками. Их функция как раз и реализуется благодаря постоянной ассоциации с определенными мембранами. Недоразумение, по всей видимости, связано с недостаточно корректным переводом с английского названия “soluble NSF-attachment protein receptor”, в котором растворимым называется белок SNAP (“soluble NSF-attachment protein, т.е. SNARE – это всего лишь SNAP receptor”, т.е. мембранный белок-рецептор для растворимого белка SNAP).

Третья довольно существенная неточность связана с тем, что автор называет малые ГТФазы ARF1 и Sar1p, инициирующую сборку нескольких комплексов окаймлений, «адаптерным белком», чем они, конечно, не являются. Однако, следует учитывать, что русскоязычная версия терминов, связанных с везикулярным транспортом, действительно не является твердо установленной.

2. Литературный обзор показывает хорошее знание диссертантом как морфологического строения изучаемых тканей, так и молекулярных аспектов их функционирования. Подробно описывается сложное строение кишечной стенки, однако отсутствие схемы ее организации затрудняет восприятие большого материала.

3. При описании результатов утверждается, что через 5 и 10 мин после введения химуса «структура КГ значимых изменений не претерпевает». Однако, если на электронной микрофотографии в контроле четко видны узкие стопки мембран КГ, то на иллюстрациях 5- и 10-минутных проб цистерны кажутся менее упорядоченными и/или набухшими. Связано ли это со спецификой получения срезов или такие изменения считаются вариантом нормы? Хотелось бы услышать комментарии Татьяны Евгеньевны по этому поводу.

Высказанные замечания носят редакторский и дискуссионный характер и несколько не умаляют высокого качества, достоверности и новизны полученных результатов. Выводы полностью соответствуют полученным результатам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Казаковой Татьяны Евгеньевны на тему «Морфофункциональная характеристика транспортного пути липидов из полости тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки (экспериментальное исследование)», представленная к официальной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки); 14.03.01 – Анатомия человека (биологические науки) является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном и методическом уровне. В диссертации содержится решение задачи, имеющей важное значение для понимания механизма всасывания и транспорта жирных кислот и разработки методов лечения заболеваний, связанных с нарушениями липидного обмена. Полученные данные могут быть рекомендованы к использованию в соответствующих курсах, читаемых на биологических факультетах классических университетов и в медицинских вузах.

Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции от 01.10.2018), а ее автор Казакова Татьяна Евгеньевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки); 14.03.01 – Анатомия человека (биологические науки).

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник,

руководитель лаборатории динамики внутриклеточных мембран
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт
цитологии Российской академии наук,

доктор биологических наук (03.00.25 – гистология, цитология, клеточная
биология), профессор

тел. 8-921 305 59 05

Адрес электронной почты: lenkor@incras.ru

Корнилова Елена Сергеевна

28.01.2021



Корниловой Е.С.
28.01.2021
расширение

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН)

Почтовый адрес: 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект 4.

Телефон ИНЦ РАН: +7 (812) 297-18-29,

факс: +7 (812) 297-18-34

Адрес электронной почты ИНЦ РАН: cellbio@incras.ru

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