

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, д.м.н. Цейликман Ольги Борисовны на диссертационную работу Выхованец Евгении Петровны «Остеотропные факторы роста и маркеры остеогенеза в крови человека при наследственных заболеваниях опорно-двигательной системы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Исследование молекулярных механизмов репаративной регенерации костной ткани является актуальным направлением патофизиологии, перспективным для развития фундаментальных наук и прикладных аспектов медицины и биологии. Важно отметить, что в данный момент основное внимание уделяется именно механизмам возникновения, развития, а также устранения патологических процессов в костной ткани. Несмотря на это, в теории регенерации многие вопросы остаются нерешенными, особенно вопросы по расшифровке механизмов регуляции регенерации поврежденных органов и тканей, определяющих дальнейшее направление поиска медикаментозных средств оптимизации восстановительных процессов в соединительной ткани. Для объяснения причин патофизиологических нарушений при заболеваниях скелета все чаще обращают внимание на исследование роли факторов роста. Исследование концентрации факторов роста и маркеров остеогенеза позволит разобраться в данном направлении более детально: от отдельно нарушенных структур до функционирования всего организма в целом.

Диссертация Е.П. Выхованец содержит подробное изучение изменений остеотропных факторов роста и метаболитов костной ткани в кровяном русле у пациентов с врожденным псевдоартрозом, несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом.

Кроме того, при значительной частоте встречаемости наследственных заболеваний костной системы возникла необходимость создания базы

нормативных значений факторов роста и маркеров остеогенеза в крови здоровых лиц различного возраста. Е.П. Выхованец предложена база референсных значений концентрации факторов роста и маркеров остеогенеза в сыворотке крови здоровых лиц, пригодных для использования в качестве группы сравнения при обследовании пациентов с наследственными заболеваниями опорно-двигательной системы.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод: данная диссертационная работа является актуальной и значимой в области исследования патофизиологии.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Диссертация является законченной научно-квалификационной работой, основанной на достаточно большом материале с применением современных методов исследования. Результаты исследования обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок, с принятием доверительной вероятности  $p \leq 0,05$ . В связи с отсутствием нормального распределения в исследуемых выборках, авторы для попарного сравнения нескольких групп применяли критерий Манна-Уитни. Результаты исследования представляли медианами, 25 и 75 квартилями. Для исследования корреляционных связей применяли критерий Пирсона. Все научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертации, изложены четко и конкретно. Выводы и практические рекомендации достоверны, аргументированы и отвечают поставленной цели и задачам.

**Достоверность и новизна полученных результатов.** Диссертация написана доступным языком, грамотно оформлена, иллюстрирована таблицами и рисунками. Автором подробно описана методология исследования, выполнена математическая обработка данных, проведен анализ результатов исследования в сравнении с данными отечественных и зарубежных авторов.

Автором установлено, в сыворотке крови условно здоровых детей и взрослых концентрация инсулиноподобного фактора роста 1 типа (IGF-1) изменяется в зависимости от возраста. Показано, что концентрация трансформирующего фактора роста- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2) отличается по половым признакам только в раннем возрасте у здоровых детей, а трансформирующего фактора роста- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) в крови различается по половому признаку только в период старшего школьного возраста. Концентрация стволового фактора роста (SCF) изменяется по половому признаку в двух периодах: переходный и дошкольный, как растворимый рецептор данного фактора (sR SCF) отличается только в раннем взрослом периоде.

Выхованец Е.П. показала, что в кровяном русле пациентов с врожденным псевдоартрозом концентрация факторов роста и их рецепторов, а также маркеров остеогенеза отличается от контрольной группы до ортопедического лечения. Наибольшие изменения обнаружены в сосудистых факторах роста, таких как: VEGF-A и его рецептор VEGF-R2, FGF-basic. В дооперационном периоде наименьшую концентрацию имеют рецептор VEGF-R3 и фактор роста TGF- $\beta$ 2. В крови больных с врожденным ложным суставом маркер резорбции костной ткани CrossLaps и кислая фосфатаза имеют низкие значения, высокое содержание отмечается для неорганического фосфора. Это позволило автору сделать вывод о наличии в структуре кости воспалительных реакций. Доказано, что у пациентов с врожденным ложным суставом голени на фоне общих изменений в содержании в крови комплекса факторов роста и метаболитов костной ткани после оперативного вмешательства происходит замедление репаративных механизмов в тканях оперируемого сегмента. Процесс резорбции костной ткани завершается лишь к 30-м суткам после оперативного вмешательства, начинается стадия формирования костного матрикса, что сопровождается увеличением высвобождения трансформирующих факторов роста TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 2 и маркеров перестройки костной ткани.

В диссертационной работе отражено, что в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом в ранние сроки после хирургического вмешательства наблюдаются значительные изменения показателей метаболизма костной ткани. Происходит активация остеобластов и активное формирование костного матрикса, о чем свидетельствует высокое содержание в крови инсулинподобного фактора роста 2 типа (IGF-2), трансформирующих факторов роста- $\beta 1$ ,  $\alpha$  (TGF- $\beta 1$  и TGF- $\alpha$ ), а также маркера биосинтетической активности – щелочной фосфатазы, при одновременном снижении активности кислой фосфатазы и концентрации пиридинолина. К 60-м суткам после хирургического вмешательства продолжается активный биосинтез матрикса, что сопровождается увеличением концентрации инсулинподобного фактора роста 2 типа (IGF-2), стволового фактора роста (SCF) и трансформирующего фактора роста- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ). Полученные данные свидетельствуют о глубоких нарушениях ремоделирования костной ткани. Увеличение ангиогенного фактора роста VEGF и его рецептора VEGF-R2 достигает 2,5 раз, что свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса соединительной ткани.

Автором обнаружено в крови пациентов с фосфат-диабетом наличие высокой концентрации трансформирующего фактора роста- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), стволового фактора роста (SCF) и низкого значения фактора роста фибробластов (FGF-basic) и васкулярноэндотелиального рецептора (VEGF-R3). Выявлена патологически высокая синтетическая активность остеобластов. Увеличение содержания васкулярноэндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови составило более 1500 %, ангиогенного фактора роста (VEGF-A) и его рецептора (VEGF-R2) более чем в 2000 %, что вызывало дальнейшее нарушение формирования пула активных остеокластов и патологическое ремоделирование костной ткани. Это позволило автору сделать вывод не только об острых воспалительных реакциях оперируемого сегмента, но и о нарушении всего процесса репаративного остеогенеза в целом.

**Значимость для науки и практики результатов диссертации.**

Выхованец Е.П. удалось создать базу референсных значений остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза у здоровых детей и взрослых различного возраста и пола. Автор выделила значимые сроки забора крови для определения концентрации факторов роста и маркеров остеогенеза после оперативного лечения у пациентов с наследственными заболеваниями скелета.

Без преувеличения можно отметить, что результаты диссертационного исследования могут быть использованы для работы специалистов разного профиля. Полученные данные концентрации остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза у здоровых лиц используются в качестве референсных значений при обследовании пациентов ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ. Отражение результатов работы представлено в справочном пособии «Содержание факторов роста и маркеров в крови детей и взрослых», авторы Е.П. Выхованец, С.Н. Лунёва. Полученные данные используются в курсах по биохимии, молекулярной биологии, спецкурсах для студентов факультета естественных наук Курганского государственного университета.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 22 научных работы, в том числе в изданиях, индексируемых в Scopus – 3, рецензируемых ВАК – 6, имеется 1 справочное пособие.

**Оценка содержания работы.** Диссертационная работа выполнена по классической схеме, изложена на 157 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 таблицами, имеется 23 рисунка. Работа Выхованец Е.П. состоит из введения, обзора литературы, методической главы, 4 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 399 источников (179 отечественных, 220 зарубежных).

Основные положения и результаты диссертационной работы апробированы на международных, всероссийских, региональных научно-

практических конференциях, съездах. Содержание диссертационной работы полностью соответствует теме. Во введении представлены актуальность темы исследования, цель и задачи исследования, методология и методы исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту. В обзоре литературы подробно проанализировано значение ростовых факторов в ремоделировании костной ткани, особенности поступления ростовых факторов в кровяное русло, а также возрастные изменения маркеров костной ткани и ростовых факторов. Солидная часть обзора посвящена теме наследственных заболеваний опорно-двигательной системы. Автор рассматривает их в фокусе нарушений продукции ростовых факторов. В главе «Материалы и методы исследования» автором подробно изложен протокол исследований, включая особенности обследованного контингента, критерии включения и исключения, использованные биохимические и иммунохимические методы и подходы к статистической обработке данных. В главах, посвященных результатам собственных исследований, анализируется содержание остеотропных ростовых факторов условно здоровых лиц, пациентов с несовершенным остеогенезом, врожденным ложным суставом и фосфат-диабетом. Изложение полученных результатов органично сочетается с их обсуждением, а заключение и выводы подводят итоги.

Основным недостатком работы является отсутствие детального обоснования оригинальных статистических подходов, применяемых автором при обработке результатов собственных исследований. В частности, во всех таблицах приведены данные в формате медианы и квартилей, с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, что представляется вполне корректным. Там же указывается на использование для оценки значимости разностей критерия Дана, что выходит за рамки традиционной статистической обработки. Здесь непонятна необходимость его применения. Считаю, что автору следовало бы в разделе «Материалы и методы» не ограничиваться имеющимися ссылками на 3 литературных

источника, а все же постараться подробно объяснить выбор именно этого критерия. Также было бы полезно узнать о достоинствах используемого в исследовании оригинального программного продукта статистической обработки данных. Тем не менее, изложенное замечание несколько не умаляет достоверность полученных результатов и научную значимость исследования.

В ходе рецензирования диссертационной работы к Выхованец Е.П. возник ряд вопросов:

1. Почему при статистической обработке данных Вы использовали оригинальный программный продукт, несмотря на наличие в большом количестве хорошо зарекомендованных себя аналогов?

2. Какие типы несовершенного остеогенеза сейчас известны? Больных с какими типами Вы исследовали в Вашей работе?

3. Как Вы считаете, будет ли эффективность в применении препаратов на основании факторов роста для Вашей категории больных?

4. Для чего Вы исследовали концентрацию кальция и фосфора в моче у пациентов? Насколько информативно было данное исследование?

5. В чем сходство выбранных патологий? Почему Вы выбрали именно данные патологии?

**Заключение.** Диссертация Выхованец Евгении Петровны «Остеотропные факторы роста и маркеры остеогенеза в крови человека при наследственных заболеваниях опорно-двигательной системы» является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, имеющей существенное значение для специальности патологическая физиология, биологические науки, так как в ее исследовании удалось выявить особенности течения репаративного остеогенеза после хирургического лечения врожденных наследственных заболеваний скелета.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, внедрению результатов исследования диссертационная работа Выхованец полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о

присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г. (с изм., утв. 21.04.2016г. № 335, ред. от 02.08.2016г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент, д.м.н.,  
доцент, директор научно-образовательного центра  
«Биомедицинские технологии» ФГАОУ ВО  
«Южно-Уральский государственный университет  
(национальный исследовательский университет)»,  
г. Челябинск

О.Б.Цейликман



ИЗВЕРНО  
Начальник службы  
делопроизводства ЮУрГУ  
О.Б. Цейликман

ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет  
Россия, 454080 Челябинск, проспект Ленина, 76  
сайт <http://www.susu.ru/> тел: +7 (351) 267-99-00, факс: + +7 (351) 267-99-00,  
email: [info@susu.ru](mailto:info@susu.ru)