

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» МЗ РФ, заведующего кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Рыжавского Бориса Яковлевича, о диссертационной работе Намаконовой Виктории Сергеевны «Патофизиологические закономерности регенерационного потенциала эпителия дыхательных путей у животных различного возраста при общем охлаждении на фоне введения природных антиоксидантов (экспериментальное исследование)», представленную к защите в объединённый совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук Д 999.199.02 при ДНЦ ФПД и ФГБОУ ВО Амурской ГМА Минздрава России на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки).

Рецензируемая диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 184 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, глав собственных данных и обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 229 источников, 85 из которых - зарубежных авторов. В автореферате а также в опубликованных статьях (из них 4 – в журналах, включенных в перечень ВАК) отражены основные положения диссертации. Во введении четко обозначены актуальность исследования, его цель и задачи, определены научная новизна и практическая ценность диссертации.

**Актуальность темы** исследования определяется:

- 1) широким распространением патологии органов дыхательной системы;
- 2) недостаточной эффективностью лечения целого ряда ее заболеваний, в том числе, индуцируемых воздействием низкой температуры, что свидетельствует о необходимости дальнейших исследований этой патологии, поиска более эффективных путей ее терапии.

Работы такой направленности, имеющие большое значение для практической медицины, в течение многих лет проводятся во многих лабораториях НИИ и вузов РФ, причем особенно большое внимание им уделяется в ведущих научных учреждениях медицинского профиля Дальнего Востока РФ, климатические условия которого способствуют развитию патологии органов дыхания. в том числе, учёными Амурской ГМА и Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания РАН. В связи с этим можно считать, что диссертация В.С. Намаконовой является частью актуальных исследований данной направленности.

Автор следующим образом формулирует цель работы: «Установить патофизиологические закономерности нарушений морфофункционального состояния и регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей у животных разных возрастных групп при общем охлаждении организма и коррекции нарушений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) природными антиоксидантами». По моему мнению, эта формулировка более полно и точно отражает содержание диссертации, чем ее название, так как в последнем указывается только на одну из сторон проведенного исследования. Задачи (5), сформулированные в диссертации, позволяют достичь поставленную цель.

Работа включает в себя 3 раздела:

1. Описание эпителиального слоя в разных отделах воздухоносных путей интактных крыс

1) краниальном отделе трахеи;

2) каудальном отделе трахеи;

3) бронхах разного размера;

4) терминальных бронхиолах у интактных крыс разного возраста

2. Описание изменений эпителия всех указанных отделов дыхательных путей под влиянием длительного воздействия низкой температуры у животных различного возраста.

### 3. Описание влияния двух природных антиоксидантов на эпителий воздухоносных путей крыс, подвергнутых длительному холодовому стрессу.

При этом каждый раздел включает в себя также данные об интенсивности перекисного окисления и антиоксидантной активности в тканях легкого и в крови.

Следует отметить, что по первым двум разделам имеются данные литературы, полученные, в том числе, учёными Амурской ГМА и Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания РАН, работы которых приводятся в обзоре литературы диссертации. В связи с этим, большая часть новых результатов получена в 3-м разделе диссертации. Представленная работа выполнена на вполне достаточном количестве животных двух возрастных групп (молодых и старых), при этом материал обработан при помощи целого ряда методик.

Данные литературы, как и результаты, полученные автором диссертации, свидетельствуют о том, что эпителий воздухоносных путей крыс, подвергнутых охлаждению, не имеет грубых отклонений от нормы, сохраняет основные морфологические характеристики, присущие ему в норме. В связи с этим важнейшими методами исследования, примененными в морфологическом разделе работы, явились методы морфометрии. Они оказались адекватными для выявления изменений, происходивших в нем у экспериментальных животных. Эти методы включали в себя определение толщины эпителия и высоту ресничекэпителиоцитов, процентное соотношение различных эпителиоцитов и числа их с признаками альтерации, количество тучных клеток в составе пласта и др., а также – компьютерную морфометрию площади сечения различных эпителиоцитов, их цитоплазмы и ядер. Анализ результатов работы выявил, что исследованные в диссертации показатели существенно и достоверно различались в сравниваемых группах животных, то есть примененные методики были адекватными и эффективными для выполнения задач исследования.

Заслуживает положительной оценки набор методов световой микроскопии и гистохимии, а также – применение электронной микроскопии,

электронной гистохимии для оценки изменений эпителия в условиях экспериментов. Они показали целый ряд изменений эпителия у крыс, подвергнутых холодному воздействию, на субклеточном, клеточном, тканевом уровнях. Они свидетельствовали о признаках изменений межклеточных контактов, секреторной активности, деструктивных изменениях митохондрий, увеличении числа клеток, подвергшихся апоптозу в эпителии дыхательных путей крыс, подвергшихся действию низкой температуры. Многочисленные микрофотографии, электроннограммы, отражающие это, убедительно свидетельствуют о хорошем качестве излучавшихся препаратов, владении автором широким набором методов исследования, подтверждают суждения автора.

По моему мнению, выявленные особенности эпителиального пласта говорят, прежде всего, об изменениях направленности процессов:

- 1) дифференцировки в нем эпителиоцитов, приводящих к изменениям соотношения количества разных клеток;
- 2) функциональной активности разных клеток;
- 3) интенсивности гибели эпителиальных клеток.

Они выявляют также увеличение в составе эпителиального слоя числа тучных клеток.

О «регенерационном потенциале» эпителия дыхательных путей автор судила по содержанию базальных клеток, их соотношению с дифференцирующимися и зрелыми эпителиоцитами и количеством клеток с признаками некроза и апоптоза. Сопоставляя эти данные, а также результаты морфометрии базальных клеток эпителия трахеи или клеток Клара бронхиол, автор расценивает их как свидетельство изменений регенерационного потенциала эпителия. Одним из существенных доводов в пользу этого тезиса служат данные об очень значительном снижении доли промежуточных клеток, образующихся непосредственно после деления базальных (стволовых) клеток. Положительно расценивая представленные для обоснования этого положения результаты, я полагаю, что оно выглядело бы еще более убедительным при

применении более прямых доказательств изменений пролиферативной активности эпителиоцитов. Полученные же данные, по моему мнению, говорят, прежде всего, о качественном изменении регенерационного потенциала, состоящем в изменениях соотношения разных путей дифференцировки эпителиоцитов и свойств образующихся клеток, в частности, приводящих к усилению их элиминации из эпителиального пласта.

Выявленные факты, теоретическое осмысление морфологических результатов работы являются ценными и необходимыми для понимания патофизиологических механизмов изменений дыхательной системы в условиях холодного стресса. При этом следует подчеркнуть, что данные, полученные при морфологическом анализе, согласуются с результатами биохимических исследований, отражающих интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови и легких изучавшихся животных, и дополняют друг друга.

В работе показано, что направленность изменений эпителия дыхательных путей при действии низкой температуры у молодых и старых крыс является однотипной, что делает обоснованным применение препаратов сходными фармакологическими свойствами для уменьшения эффекта холодового воздействия как у молодых, так и у старых животных. В то же время, в работе показаны и некоторые особенности реагирования эпителия у животных разных возрастных групп. Они выявляются и при анализе влияния экспериментального воздействия на перекисное окисление и антиоксидантную активность в крови и тканях легких. При этом автором получены новые данные об особенностях влияния дигидрокверцетина и арабиногалактана на разные отделы дыхательных путей у молодых и старых животных.

Полученные в работе результаты определяют основные положения и выводы диссертации. Они обосновываются 1) достаточным количеством животных в каждой исследованной группе 2) адекватными методическими подходами, примененными для решения поставленных задач, широким комплексом морфометрических подходов, статистической обработкой

полученных при этом данных, использованием корреляционного анализа; 3) согласованностью результатов, полученных при морфологическом и биохимическом изучении материала.

Выводы диссертации (б) не вызывают возражений, базируются на результатах тщательного многостороннего изучения эпителия дыхательных путей, а также – перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови и легком.

**Научная новизна основных выводов и результатов.** Диссертантом впервые проведено комплексное морфометрическое, гистохимическое, электронно-микроскопическое изучение эпителия дыхательных путей животных разного возраста при холодовом воздействии на фоне применения препаратов из растений, произрастающих в Дальневосточном регионе, дигидрокверцетина и арабиногалактана, на состояние эпителия дыхательных путей у животных разных возрастных групп. Получены данные о влиянии дигидрокверцетина и арабиногалактана на перекисное окисление липидов и антиоксидантную защиту в крови и легком у крыс разного возраста, подвергнутых холодовому воздействию. Их новизна подтверждена патентом на изобретение.

**Теоретическая и практическая значимость.** Научная значимость работы состоит в описании изменений характера дифференцировки и цитофизиологии эпителиоцитов, состояния эпителиального пласта, межклеточных взаимодействий в нем при действии низкой температуры, их корреляциях с показателями перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Результаты морфологического изучения эпителия дыхательных путей могут служить для углубления знаний о патофизиологии изменений этой системы при холодовых воздействиях. Данные о выраженном антиокислительном эффекте дигидрокверцетина, корректирующим дисбаланс системы перекисного окисления и антиоксидантной защиты у животных разного возраста в условиях действия низких температур на организм могут представлять интерес для фармакологов, разрабатывающих препараты для профилактики альтерации дыхательных путей в условиях холодового стресса. Экспериментальные данные, полученные В.С.

Намаконовой, могут служить экспериментальной основой для применения в клинической практике, а также – при чтении лекций в медицинских вузах по патофизиологии, гистологии, фармакологии.

Отмечая положительные стороны диссертации, следует отметить, что она вызывает ряд **вопросов и замечаний**.

1. При изложении результатов исследования, а также в главе «Обсуждение результатов исследования» автор обращает внимание на роль микроокружения эпителиоцитов, зависящего от эпителиально-стромальных взаимоотношений, числа и состояния тучных клеток в пласте, а также – от состояния соседних эпителиоцитов. Роль этих механизмов в реакции эпителия на холодовой стресс не вызывает сомнений.

В то же время, в главе «Обсуждение результатов исследования», по моему мнению, следовало бы ответить на вопрос о причинах значительного уменьшения числа промежуточных клеток в эпителиальном слое воздухоносных путей. По-видимому, могут быть разные механизмы этих изменений:

- 1) в результате снижения интенсивности их образования после деления и дифференцировки базальных эпителиоцитов
- 2) вследствие ускоренной дифференцировки в бокаловидные и реснитчатые клетки
- 3) вследствие усиленной гибели и экстррузии (элиминации) данных клеток.

В этой главе уместно было бы также рассмотреть вопрос о факторах, которые непосредственно действовали на эпителий дыхательных путей, определить роль вдыхаемого холодного воздуха на эпителиоциты (особенно краниального отдела трахеи) и действие общих изменений в организме, характерных для стресса (изменений гормонального статуса, иннервации и др.). Ответы на эти вопросы, позволили бы более детально анализировать механизмы действия исследованных в работе дигидрокверцетина и арабиногалактана.

2. В работе имеются, в том числе, в выводах, неудачные формулировки (...указывает уменьшение площади и ядра базальных клеток и клеток Клара ...)

Отмеченные недостатки не меняют общую оценку диссертации как большой, тщательно и квалифицированно выполненной работе, посвященной актуальной и важной для практической медицины проблеме, содержащей новые научные данные.

### **Заключение:**

Таким образом, диссертация Намаконовой Виктории Сергеевны «Патофизиологические закономерности регенерационного потенциала эпителия дыхательных путей у животных различного возраста при общем охлаждении на фоне введения природных антиоксидантов (экспериментальное исследование)» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработано решение актуальной проблемы патофизиологических структурно-функциональных закономерностей эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при применении природных антиоксидантов на фоне общего охлаждения организма, что соответствует требованиям к диссертации на соискание ученой степени, установленным п. 9 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённым Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. N 842 (ред. от 1.10.2018 г.), а сам автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки).

### **Официальный оппонент**

доктор медицинских наук, профессор ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» МЗ РФ, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии

Б.Я.Рыжавский

« 17 » сентября 2019 г.

Подпись д-ра медицинских наук, профессора Б.Я. Рыжавского заверяю  
Начальник управления кадрами Е.А. Шишмакова

