

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, руководителя лаборатории молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов ФИЦ ФТМ Меньшиковой Елены Брониславовны, на диссертационную работу Пинаевой Ольги Геннадьевны "Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-энкефалина", 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 доктора/кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки)

### **Актуальность темы диссертации**

Гипоксия сопровождается хорошо известным парадоксом: несмотря на снижение парциального давления кислорода, в тканях увеличивается генерация его восстановленных форм – активированных кислородных метаболитов, при этом в силу компенсаторной централизации кровообращения в пользу наиболее жизненно важных органов печень – одна из наиболее страдающих мишеней. Особенно важными представляются исследования механизмов нарушения редокс-баланса и формирования повреждений печени, возникающих при гипоксии плода, поскольку последняя не только остается наиболее актуальной причиной перинатальной смертности, но и зачастую сопровождается возникновением неонатальной коморбидности и ее тяжелых последствий, таких как пищевая непереносимость, нарушение роста и развития, сердечно-сосудистые патологии, метаболический синдром. Логичен и оправдан также поиск способов нивелирования возникающих нарушений.

### **Научная новизна основных выводов и результатов**

Исследование О.Г. Пинаевой обладает несомненной новизной. Авторов впервые показано, что внутриутробная гипоксия приводит не только к

существенным структурным нарушениям в печени в отдаленные периоды развития (уменьшение массы печени, площади гепатоцитов и их ядер, числа и площади ядрышек и увеличение доли двуядерных гепатоцитов), но и к перманентному окислительному стрессу. Оригинальное исследование возможности коррекции нарушений, возникающих вследствие перенесенной антенатальной гипоксии, путем назначения в ранний неонатальный период синтетических аналогов лей-энкефалина (даларгина и НАЛЭ), продемонстрировало их выраженный протективный эффект – как немедленный (7-суточные детеныши), так и пролонгированный (60-суточные половозрелые крысы).

**Теоретическая и практическая значимость** диссертационной работы обусловлена экспериментальным доказательством взаимосвязи между перенесенной в позднем периоде внутриутробного развития гипоксией и развитием как в ранний, так и в поздний периоды онтогенеза структурных нарушений в печени, подавлением пролиферативной и анаболической активности гепатоцитов, формированием локального и системного редокс-дисбаланса. Доказано, что аналоги лей-энкефалина с разным механизмом действия (агонист опиатных рецепторов даларгин и неопиатный аналог НАЛЭ) в разной степени, но однонаправленно модулируют выявленные негативные изменения, будучи применены в первые дни после рождения, что открывает перспективы разработки на их основе препаратов, предназначенных для купирования последствий антенатальной гипоксии.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертация соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, четкостью и последовательностью изложения, взаимосвязью и обоснованностью сформулированных в ней научных положений, выводов и поставленных задач. Тема работы в достаточной степени отражена в цели исследования, достичь

которую позволяет поэтапное решение задач. При этом следует отметить, что использованные в работе методические подходы и методики позволяют в полной мере решить поставленные задачи и сформулировать выводы. Обработка первичного материала проводилась с применением адекватных статистических методов, что позволило автору корректно интерпретировать полученные результаты исследований. Положения, выносимые на защиту, и выводы, сформулированные в диссертации, основаны на представленном фактическом материале и являются непосредственным итогом научной работы, проведенной автором. Таким образом, можно говорить о высокой степени обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

**Общая характеристика диссертационной работы.** Диссертация построена в классическом стиле: включает введение, обзор литературы, главу "Материал и методы исследований", 3 главы результатов собственных исследований с их обсуждением, заключение и выводы, список сокращений и список использованной литературы. Объем работы – 151 страница. Работа проиллюстрирована 12 рисунками и 21 таблицей. Список используемой литературы включает 389 источников, как вполне современных, так и базовых.

**В 1 главе** автор проводит анализ отечественной и зарубежной литературы и обсуждает современное состояние вопроса. Приведено обоснование выбора объекта исследования – печени млекопитающих, для развития которой антенатальная гипоксия является значимым повреждающим фактором, описаны защитные свойства опиоидных пептидов. Обзор написан профессионально и читается с интересом.

**2 глава** состоит из подробного изложения дизайна исследования и описания использованных методов, к числу плюсов работы можно отнести детальное обоснование методических подходов и описание принципа каждого метода. Дизайн и объем исследований хорошо продуман, объем выборок обоснован. Выбранные методические подходы адекватны поставленным задачам. В работе использованы современные морфометрические,

гистохимические, автордиографический, хемилюминесцентный, иммуноферментный, биохимические методы, для их реализации применено сертифицированное оборудование, анализ результатов выполнен с использованием адекватных статистических подходов, в том числе примененных для исключения выбросов, что не оставляет сомнений в достоверности полученных результатов.

**3 глава** содержит результаты собственных исследований и их обсуждение. О.Г. Пинаева каждый раздел работы предваряет кратким описанием смысла и дизайна проводимой серии экспериментов, достаточно подробно приводит полученные данные и скрупулезно их обсуждает, не обходя противоречий собственных результатов и данных литературы.

С точки зрения читателя **заключение** - самый интересный раздел диссертации, изложен хорошим научным языком. В нем обобщен весь предыдущий материал диссертации, что позволило сформулировать **выводы**, которые вытекают из полученных данных и не вызывают сомнений в их научной новизне. Достоверность выводов обоснована обширностью полученного материала, использованием большого количества животных (587 крыс), основана на статистической обработке полученных данных и на логичном обобщении установленных фактов.

Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации. Результаты работы неоднократно докладывались на научных конференциях и симпозиумах и изложены в 13 публикациях, в том числе в 4 статьях в рецензируемых журналах, входящих в перечень научных изданий ВАК при Минобрнауки РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Результаты и выводы диссертации целесообразно использовать для чтения лекций и проведения практических занятий для студентов медико-биологических специальностей, ординаторов по дисциплинам "Патологическая физиология", "Общая патология", "Фармакология", "Эмбриология".

**Принципиальных замечаний по работе не имею.** Вместе с тем, выполняя почетные обязанности рецензента, хочу задать диссертанту вопросы и отметить небольшие недочеты в работе (высказанные замечания скорее носят характер пожеланий).

**Вопросы:**

1. Насколько адекватно моделирование внутриутробной гипоксии, которая является нормобарической, с помощью использованного в работе способа – помещения беременных самок в барокамеру, то есть в условия гипобарической гипоксии?

2. Поскольку пол 7-суточного потомства явно не указан, видимо, использованы крысыта обоего пола, в то же время в группу 60-суточного потомства вошли только самцы. Чем объяснить такой разный подход к гендерному составу групп?

3. Начиная с середины 1990-х годов количество исследований, в которых используется <sup>3</sup>H-тимидин для характеристики пролиферативной активности клеток, что обусловлено не только появлением нерадиоактивных меток, но и сведениями о способности <sup>3</sup>H-тимидина вызывать повреждение ДНК, арест клеточного цикла и апоптоз [Hu V.W. et al., 2002]. Насколько адекватно использование данного метода в настоящем исследовании?

**Замечания:**

1. Мне представляется неудачным выражение "антиоксидантное действие опиоидных пептидов", поскольку непосредственным антиоксидантным эффектом они не обладают. Автор поясняет в некоторых местах диссертационной работы, что имеется в виду не прямой эффект, но для академичности изложения упоминать об такой опосредованности действия нужно достаточно строго.

2. Поскольку в экспериментах, описанных в разделах 3.1-3.2 и 3.3. использованы разные животные (соответственно рандомбредные белые крысы и крысы Вистар), существенно различающиеся по гравиметрическим показателям, целесообразно было бы ввести еще одну (четвертую) группу


позитивного контроля ("нормоксия + даларгин", "нормоксия + НАЛЭ").

Высказанные замечания носят дискуссионный и рекомендательный характер и не влияют на общую положительную оценку работы.

### Заключение

Таким образом, диссертация Пинаевой Ольги Геннадьевны "Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-энкефалина" является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи изучения механизмов формирования постгипоксических нарушений, имеющей значение для развития патологической физиологии, что соответствует требованиям к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, установленным п. 9 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённым Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. N 842, а сама автор работы, О.Г. Пинаева, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.




### Официальный оппонент

доктор медицинских наук, руководитель лаборатории  
молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
"Федеральный исследовательский центр фундаментальной и  
трансляционной медицины:"  Е.Б. Меньщикова

«29» марта 2018 г.

Адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2;

тел. +7-913-764-3387, электронная почта lemen@centercem.ru

Личную подпись   
Заверяю   
Начальник отдела   
29.03.2018 г.

