

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической анатомии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Надеева Александра Петровича, на диссертационную работу Ольги Геннадьевны Пинаевой на тему: «Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-энкефалина», представленной к защите в объединенный совет по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 999. 199. 02 при ДНЦ ФПД и ФГБОУ ВО Амурской ГМА Минздрава России на соискании ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология

**Актуальность темы диссертации.** Диссертационное исследование О.Г. Пинаевой посвящено одной из важных проблем современной медицины и биологии – влиянию антенатального гипоксического поражения плода на развитие организма в период новорожденности и в отдаленный период жизни. Известно, что частота внутриутробной гипоксии плода и асфиксии в родах, по данным разных авторов, колеблется от 4 – 6 % до 46,6 %. Антенатальная гипоксия и асфиксия при рождении занимают первое место в структуре причин перинатальной заболеваемости и смертности. Хроническая антенатальная гипоксия плода приводит к задержке его внутриутробного развития, преждевременным родам, рождению маловесных плодов и новорожденных. В свою очередь наличие хронической антенатальной гипоксии плода в анамнезе осложняет процессы адаптации новорожденного и влияет на дальнейшее психосоматическое развитие ребенка и взрослого человека.

Печень, являясь одним из основных органов гомеостазирования у млекопитающих, обладает высокой чувствительностью к недостатку кислорода, уступая в этом отношении лишь головному мозгу. Антенатальная гипоксия плода

сопровождается структурно-функциональными нарушениями печени. Вместе с тем, связь структурно-функциональных нарушений печени и оксидативного стресса, обусловленного антенатальной гипоксией плода, особенно в отдаленный период жизни, остается недостаточно изученной. Данные о возможных путях коррекции и использования биологически активных веществ в постнатальный период нарушений печени, связанной с антенатальной гипоксией плода, немногочисленны. В этой связи, диссертационное исследование О.Г. Пинаевой является, несомненно, своевременным и актуальным.

**Научная новизна основных выводов и результатов.** Научная новизна диссертационного исследования также не вызывает сомнения. Автором впервые изучены отдаленные эффекты антенатальной гипоксии на пролиферативные, анаболические и свободнорадикальные процессы в печени новорожденных и половозрелых белых крыс. Выявлено, что гипоксическое воздействие в антенатальном периоде имеет отдаленные структурные последствия для печени крыс: у половозрелых животных, перенесших антенатальную гипоксию, имеет место снижение массы печени, уменьшение размеров гепатоцитов и их ядер, снижение количества ядрышек и их суммарной площади. Также впервые показано, что структурные нарушения в печени половозрелых животных, перенесших антенатальную гипоксию, сопровождаются оксидативным стрессом на органном и организменном уровнях. Впервые проведен анализ эффектов раннего постнатального введения неселективного агониста  $\delta$ -/ $\mu$ -опиатных рецепторов даларгина и неопиатного аналога лей-энкефалина (НАЛЭ) на ДНК-синтетическую активность гепатоцитов и параметры ядрышкового аппарата гепатоцитов 7-суточных белых крыс, а также на цитокариометрические параметры, показатели ядрышкового аппарата гепатоцитов половозрелых 60 суточных белых крыс. Впервые проведен анализ гепатопротективного эффекта раннего постнатального введения неселективного агониста  $\delta$ -/ $\mu$ -опиатных рецепторов даларгина и неопиатного аналога лей-энкефалина после антенатальной гипоксии у белых крыс в разные возрастные периоды.

**Теоретическая и практическая значимость.** В диссертации доказаны закономерности развития организма, возникающие после антенатальной гипоксии плода, проявляющиеся снижением массы тела, массы печени, ДНК-синтетической активности гепатоцитов и уменьшением количества ядрышек в ядрах гепатоцитов на фоне активации процессов свободнорадикального окисления на организменном и органном уровне как в период новорожденности (7 суток жизни), так и в отдаленный период (60 суток жизни белых крыс).

Результативно использован комплекс методов исследования, таких как патофизиологический, гистологический, цитологический, морфометрический, статистический; диссертационная работа является экспериментальной, проведенной на беспородных белых крысах и белых крысах Вистар.

Изложены доказательства корректирующего влияния неселективного агониста  $\delta$ -/ $\mu$ -опиатных рецепторов пептида даларгин на негативные последствия антенатальной гипоксии у 7-суточных животных: пептид даларгин полностью нормализует соматометрические параметры и структурные показатели печени (массу тела и абсолютную массу печени, ДНК-синтетическую активность гепатоцитов), существенно снижает проявления оксидативного стресса на органном уровне и приводит к частичной коррекции структурных изменений печени у 60-суточных животных. Также доказано, что введение НАЛЭ новорожденным белым крысам, подвергнутым антенатальной гипоксии, вызывает частичную коррекцию негативных последствий антенатальной гипоксии у 7-суточных животных и оказывает выраженное корректирующее влияние на отдаленные негативные последствия антенатальной гипоксии у 60-суточных крыс-самцов: нормализует соматометрические показатели, морфометрические параметры гепатоцитов (таких как средняя площадь гепатоцитов и средняя суммарная площадь ядрышек гепатоцитов), значительно снижает проявления оксидативного стресса на органном и системном уровнях.

Изучена взаимосвязь антенатальной гипоксии плода и соматического развития организма белых крыс в период новорожденности и в отдаленный пост-

натальный период жизни и обсуждены вероятные механизмы, объясняющие эту взаимосвязь.

Исследование проводилось в рамках государственного задания № 056-00110-16-00 ПР «Роль регуляторных пептидов группы опиоидов в компенсации нарушений структурного гомеостаза организма, индуцированных антенатальным оксидативным стрессом».

Автором представлено экспериментальное обоснование применения аналогов лей-энкефалина как перспективных средств коррекции ранних и отдаленных постгипоксических изменений у млекопитающих, что может послужить основой для доклинических испытаний фармакологических препаратов на основе неопиатного аналога лей-энкефалина в педиатрии и неонатологии.

Автором разработана и внедрена новая методика приготовления цитологических препаратов изолированных гепатоцитов (рационализаторское предложение № 2780), что может быть использовано в научно-исследовательских лабораториях.

**Достоверность полученных результатов. Оценка содержания диссертации, ее завершенности, замечания по оформлению работы**

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом выполненных исследований (автор использовал в работе 587 животных) с использованием современных методов, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Диссертационная работа О.Г. Пинаевой написана в традиционном стиле, изложена на 150 страницах, содержит 21 таблицу и 12 рисунков. Список литературы включает 385 источников, в том числе 202 отечественных и 183 иностранных. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных результатов, заключения, выводов и списка литературы.

Во «Введении» автор кратко обосновывает актуальность проведенного исследования, четко формулирует цель исследования, для достижения которой

обозначает 6 задач. Научная новизна, практическая значимость и основные положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно, четко и не вызывают вопросов.

В главе «Обзор литературы» автором подробно освещены вопросы, касающиеся эмбриогенеза печени и становления ее функций; деструктивным и компенсаторным изменениям, возникающим в печени при антенатальной гипоксии плода, ее роли в развитии задержки внутриутробного развития плода, влиянию оксидативного стресса при антенатальной гипоксии плода на структурно-функциональное состояние печени и организма в целом. Автором представлены данные о группах опиоидных пептидов, обладающих сродством к опиатным рецепторам, их полифункциональности. Автор проанализировал литературные данные о влиянии опиоидных пептидов на пролиферативную и анаболическую активность клеток, цитопротективном, антиоксидантном и гепатопротективном эффектах селективных и неселективных опиоидных пептидов, в частной двух аналогов лей-энкефалина - селективного агониста опиоидных рецепторов пептида даларгин и НАЛЭ.

В главе «Материалы и методы» представлено подробное описание организации эксперимента, обоснования выделения экспериментальных групп и объема проведенного исследования. Автором для воспроизводства антенатальной гипоксии использована модель гипобарической гипоксии путем помещения животных в барокамеру с «подъемом» на высоту 9 км. Автором были использованы современные методы патофизиологического, биохимического исследования, светооптической микроскопии, радиоавтографии цитологический и морфометрический методы. Обработка полученных данных и статистический анализ результатов выполнен с помощью пакета современных программ «Statistica 10.0» корректно. Автор применил опиоидные пептиды, синтезированные лабораторией «Алмабион» (Россия).

Собственные результаты исследования приведены в 3-й главе. В 1-ой подглаве представлены показатели состояния печени 7-суточных белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, свидетельствующие о выраженном повре-

ждающем влиянии антенатальной гипоксии на организм и печень в раннем постнатальном периоде: снижение абсолютной массы тела и органа, подавление ДНК-синтетической активности гепатоцитов, уменьшение количества ядрышек в ядрах гепатоцитов, что отражает развитие структурного дефицита печени, выраженный оксидативный стресс на органном уровне. Гипоксическое воздействие в антенатальном периоде также имело отдаленные (60 суток жизни) структурные последствия для организма и печени крыс и индуцирует развитие оксидативного стресса как на органном уровне, так и на уровне организма в целом. Во 2-ой подглаве автор изучил эффекты двух аналогов лей-энкефалина - даларгина, являющегося неселективным  $\delta$ - $\mu$ -агонистом опиоидных рецепторов и неопиатный аналог лей-энкефалина (НАЛЭ), которые, как показано в ходе экспериментальных исследований, не оказывают негативного влияния на структуру печени у интактных 7-суточных и 60-суточных белых крыс. Во 3-й подглаве показано, что неселективный агонист  $\delta$ - $\mu$ -опиоидных рецепторов пептид даларгин нивелирует негативное влияние антенатальной гипоксии на гравиметрические и морфологические показатели печени новорожденных и 60 суточных белых крыс и существенно снижает выраженность оксидативного стресса на органном уровне. Вместе с тем, пятикратное введение пептида НАЛЭ новорожденным крысам, перенесшим антенатальную гипоксию, существенно снижает выраженность оксидативного стресса на органном уровне и устраняет угнетающее влияние антенатальной гипоксии на синтез ДНК гепатоцитами. Однако, влияние антенатальной гипоксии на массу тела, абсолютную массу печени и количество ядрышек в ядрах гепатоцитов не корректировалось неонатальным введением НАЛЭ, а у 60-суточных белых крыс-самцов введение в раннем постнатальном периоде НАЛЭ оказывает частичное корректирующее влияние на морфофункциональные параметры печени и организма.

В «Заключении» автор провел анализ и обсуждение полученных результатов, используя современную литературу, сжато сформулировал основные результаты проведенного диссертационного исследования.

В 7 выводах были отражены основные результаты исследования, полностью соответствующие поставленным цели и задачам исследования.

В диссертационной работе имеются опечатки (например, с.50, 75, 86, и другие), стилистические нарушения. Однако указанные замечания являются техническими и не умаляют проведенного автором научного исследования.

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, отражающих основные положения диссертации, из них 4 в изданиях, рекомендованных ВАК.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и оформлен в соответствии с требованиями ВАК.

Установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами других авторов по данной тематике, в частности, Ю.И. Савченков, К. С. Лобынцев (1980), Е.В. Нагаева, Т.Ю.Ширяева (2010), S.Wedgwood et al. (2015); F. Xiong et al. (2016) и других.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.** Полученные экспериментальные данные могут быть использованы для чтения лекций и проведения практических занятий по специальностям патологическая физиология, общая патология, фармакология, гистология в ВУЗах медицинского и биологического направления. Результаты исследования и усовершенствованные методы (Приготовление цитологических препаратов изолированных гепатоцитов, рационализаторское предложение № 2780) могут быть использованы в научно-исследовательских учреждениях.

В процессе рассмотрения диссертации появились вопросы к автору, которые требуют обсуждения.

1. Наблюдал ли автор патологические митозы в гепатоцитах. Какую роль может сыграть антенатальная гипоксия в нарушении митотического деления в гепатоцитах?

2. Какие процессы являются доминирующими в развитии отдаленных последствий антенатальной гипоксии плода: деструктивные, дизадаптивные, и какие механизмы их поддерживают в течение длительного времени?

**Заключение.** Таким образом, диссертация Пинаевой Ольги Геннадьевны на тему: «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 – изучен характер влияния антенатальной гипоксии на пролиферативные и анаболические процессы, а также свободнорадикальное окисление в печени белых крыс на ранних и отдаленных этапах постнатального онтогенеза и предложены пути коррекции возникающих нарушений биологически активными пептидами семейства опиоидов, имеющей существенное значение для развития патологической физиологии, что соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842, и ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

**Официальный оппонент,**

доктор медицинских наук, профессор  
заведующий кафедрой патологической анатомии  
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный  
медицинский университет» Минздрава РФ  
« 20 » апреля 2018 г.



А.П. Надеев

Юридический адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52,  
тел./факс 383-2-223204  
e-mail: [rectorngmu@yandex.ru](mailto:rectorngmu@yandex.ru); <http://www.ngmu.ru>

Подпись

д-ра мед. наук, профессора Надеева Александра Петровича  
заверяю  
Начальник отдела кадров  
« 20 » апреля 2018 г.



О.А. Кох