

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения «Институт
экспериментальной медицины»
профессор РАН, д.б.н.



А. В. Дмитриев

« 16 » апреля 2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научной и практической ценности диссертации Пинаевой Ольги Геннадьевны
«Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых
антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-
энкефалина» на соискание учёной степени кандидата
медицинских наук по специальности
14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа О.Г. Пинаевой посвящена изучению патогенеза ранних и отдаленных морфо-функциональных нарушений печени после антенатальной гипоксии у крыс, а также исследованию возможности использования аналогов лей-энкефалина, имеющих разную аффинность к опиатным рецепторам, для коррекции возникающих при этом изменений.

Гипоксия является универсальным патогенетическим звеном в дисрегуляции системы «мать-плацента-плод» и одной из главных причин развития нарушений практически всех органов и систем у ребенка в раннем неонатальном периоде развития и в более поздние сроки онтогенеза. Гипоксия плода приводит к дисфункции печени (гипербилирубинемии и/или коагулопатии) новорожденных, к развитию метаболического синдрома и неалкогольного стеатогепатита в препубертатном, пубертатном периоде и во взрослом возрасте.

В отечественной и зарубежной литературе имеется большое количество работ, посвященных изучению молекулярных механизмов окислительного

стресса и воздействия активированных кислородных метаболитов на процессы жизнедеятельности клетки, особенности ее пролиферации не только в физиологических условиях, а и в условиях патологии. Однако, связь отдаленных структурно-функциональных нарушений печени и окислительного стресса, обусловленного антенатальной гипоксией, изучена недостаточно.

Профилактика и лечение нарушений печени, возникающих в период внутриутробного развития, является одним из приоритетных направлений развития перинатальной медицины. В последнее время в качестве перспективных средств коррекции постгипоксических нарушений широко изучаются биологически активные пептиды, в частности, такие регуляторные соединения, как опиоидные пептиды. Опиоидные пептиды влияют на пролиферативные и анаболические процессы в печени. Установленное антиоксидантное и гепатопротективное действие опиоидных пептидов позволяет предполагать их высокую эффективность при коррекции морфофункциональных нарушений в печени млекопитающих, перенесших антенатальную гипоксию. В качестве антигипоксических и гепатопректорных веществ диссертантом исследованы структурные аналоги лей-энкефалина, неселективный агонист δ/μ -опиатных рецепторов пептид даларгин и лишенный аффинности к опиатным рецепторам, пептид НАЛЭ. В перспективе разработка препаратов на основе синтетических аналогов лей-энкефалина может позволить использовать их в качестве средств коррекции постгипоксических нарушений после антенатальной гипоксии.

Вышеизложенное позволяет заключить, что диссертационная работа О.Г. Пинаевой является актуальным исследованием в области фундаментальной и практической медицины, поскольку раскрывает характер морфологических и метаболических нарушений при окислительном стрессе, обусловленном антенатальной гипоксией, и обосновывает возможность создания препаратов на основе аналогов лей-энкефалина для коррекции постгипоксических нарушений в неонатологии и педиатрии.

Новизна исследования и полученных результатов.

Автором убедительно показано длительно сохраняющееся, вплоть до половой возрелого возраста, негативное влияние антенатальной гипоксии на структурно-функциональное состояние печени млекопитающих; а также выявлено, что у половой возрелых животных, перенесших антенатальную гипоксию, имеет место снижение массы печени, изменение цитокариометрических параметров гепатоцитов, а именно, уменьшение размеров гепатоцитов и их ядер, снижение количества и размеров ядрышек.

Диссидентом впервые экспериментально доказано, что структурные нарушения в печени половой возрелых животных, перенесших антенатальную гипоксию, связаны с окислительным стрессом. Выявлены негативные последствия окислительного стресса не только на органном уровне, но и на уровне организма в целом - у половой возрелых животных, перенесших антенатальную гипоксию.

О.Г. Пинаевой впервые изучены эффекты неонатального введения неселективного агониста δ -/ μ -опиатных рецепторов (ОР) даларгина и неопиатного аналога лей-энкефалина пептида НАЛЭ на ДНК-синтетическую активность и количество ядрышек гепатоцитов 7-суточных белых крыс, а также на цитокариометрические параметры гепатоцитов 60-суточных белых крыс. Показано, что в физиологических условиях оба пептида оказывают однодиаправленные эффекты, имеющие преимущественно анаболический характер.

Автором проанализирован гепатопротективный эффект неселективного агониста δ -/ μ -ОР даларгина и неопиатного аналога лей-энкефалина пептида НАЛЭ у 7- и 60-суточных белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию; впервые показана возможность коррекции постгипоксических изменений пролиферативных, анаболических и свободнорадикальных процессов в печени с помощью неонатального введения исследуемых аналогов лей-энкефалина у новорожденных и половой возрелых белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии.

Данные о корригирующем влиянии введения пептида даларгин и пептида НАЛЭ в раннем постнатальном периоде онтогенеза на отдаленные

биохимические и морфологические последствия окислительного стресса, индуцированного антенатальной гипоксией, получены автором впервые.

В связи с вышеизложенным, научная новизна диссертационной работы О.Г. Пинаевой несомненна. Полученные новые сведения о механизмах развития моррофункциональных нарушений в гепатоцитах после перенесенной антенатальной гипоксии и обоснование использования аналогов лей-энкефалина (даларгина и НАЛЭ) с целью их коррекции можно квалифицировать как решение важной научной задачи.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты диссертационной работы О.Г. Пинаевой расширяют представления о патогенезе постгипоксических нарушений пролиферативных, анаболических и свободнорадикальных процессов в печени млекопитающих после антенатальной гипоксии. Диссидентом показано, что изменения данных процессов носят длительный характер, сохраняются до половозрелого возраста и могут приводить к «фетально-запрограммированным» болезням печени и обмена веществ у взрослых. Полученные О.Г. Пинаевой данные дополняют современные представления о влиянии регуляторных пептидов на моррофункциональное состояние печени в условиях физиологической нормы и при окислительном стрессе, обусловленном антенатальной гипоксией.

Автором результативно использован комплекс современных экспериментальных методов исследования, таких как авторадиографическое, гистохимическое, морфометрическое исследования гепатоцитов. Свободнорадикальные процессы в гомогенатах печени и сыворотке крови изучены с помощью метода хемиллюминесценции. Диссидентом убедительно доказано, что антенатальное гипоксическое воздействие негативно влияет на ДНК-синтетическую активность, угнетает ядрышковый аппарат гепатоцитов новорожденных белых крыс и приводит к уменьшению размеров гепатоцитов, их ядер, ядрышек, а также снижает количество ядрышек у половозрелых крыс. Таким образом, автор раскрывает связь между компенсаторно-приспособительным механизмом централизации кровообращения, развивающимся в условиях антенатальной гипоксии и имеющим ряд

неблагоприятных для функционирования печени последствий, и морфологическими и метаболическими изменения гепатоцитов в ранние и отдаленные периоды развития организма.

Диссертант приводит данные, подтверждающие тот факт, что структурные нарушения печени белых крыс после антенатальной гипоксии сопровождаются интенсификацией свободнорадикального окислении и развитием окислительного стресса в печени новорожденных, а также в печени и сыворотке крови половозрелых животных. Таким образом, автором показана связь отдаленных структурно-функциональных нарушений печени и окислительного стресса, обусловленного антенатальной гипоксией. Эти данные вносят важный вклад в развитие фундаментальных представлений о механизмах нарушений функционирования клеток печени после антенатальной гипоксии.

Диссидентом проведен сравнительный анализ эффектов аналогов лей-энкефалина и доказано, что агонист опиатных рецепторов даларгин и неопиатный аналог лей-энкефалина, оказывают односторонние корригирующие эффекты на негативные ранние и отдаленные последствия антенатальной гипоксии в печени. О.Г. Пинаева показала, что даларгин оказывает более выраженное, чем НАЛЭ, нормализующее действие на состояние печени 7-суточных животных, в то время как НАЛЭ - более выраженный, чем даларгин нормализующий эффект на состояние печени 60-ти суточных животных. Таким образом, в диссертационной работе О.Г. Пинаевой показаны возможные пути коррекции патологии печени после антенатальной гипоксии с помощью биологически активных пептидов.

Результаты диссертационной работы О.Г.Пинаевой внедрены в учебный процесс кафедры нормальной и патологической физиологии ДВГМУ в разделах “Гипоксия”, «Патология печени», «Метаболический синдром». О.Г. Пинаевой, совместно с ее научным руководителем, разработан новый способ получения суспензии гепатоцитов крыс, который внедрен в экспериментальную деятельность Центральной научно-исследовательской лаборатории ДВГМУ (рационализаторское предложение № 2780).

Полученные сведения представляют интерес не только с точки зрения фундаментальной, но клинической медицины, поскольку в медицинской практике применяется свыше 60 лекарственных препаратов, созданных на основе эндогенных регуляторных пептидов. Определены перспективы практического использования аналогов лей-энкефалина в неонатологии с целью коррекции последствий антенатальной гипоксии. Результаты диссертационной работы О.Г. Пинаевой могут быть использованы при формировании показаний к применению препаратов, созданных на основе лей-энкефалина. Особый интерес будет представлять НАЛЭ в связи с отсутствием у него опиоидной активности, что особенно важно для использования его в педиатрии и неонатологии.

Таким образом, рассматриваемая диссертационная работа имеет высокую теоретическую и практическую значимость.

Достоверность полученных результатов

Результаты исследования получены на сертифицированном оборудовании, подтверждена воспроизводимость результатов в различных условиях, а именно на крысах различных линий - рандомбредных и Вистар. Диссертация построена на известных, проверяемых фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными. Идея работы базируется на анализе наблюдений практической медицины, обобщении передового опыта. Проведено сравнение полученных автором данных с данными, ранее описанными в литературе. Установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами независимых источников по данной тематике. Использованы современные методики сбора и статистической обработки информации, адекватные поставленным в работе задачам. Обоснован подбор единиц наблюдения, формирование групп сравнения. Диссертация соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, взаимосвязью выводов и поставленных задач. Таким образом, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты и выводы диссертации могут быть рекомендованы для внедрения в учебный процесс на кафедрах нормальной и патологической физиологии, патологической анатомии, фармакологии, клинической патофизиологии, медицинской биохимии, акушерства и гинекологии, неонатологии и педиатрии, терапии в учебных заведениях медицинского и биологического профиля; при подготовке специалистов неонатологов, педиатров, акушеров-гинекологов и в работе отделений соответствующего профиля; при определении показаний к применению препаратов, созданных на основе синтетических аналогов лей-энкефалина в качестве средств коррекции постгипоксических нарушений после антенатальной гипоксии.

Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию диссертации не имеется.

Заключение

Диссертация Ольги Геннадьевны Пинаевой «Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-энкефалина», является научно-квалификационной работой, в которой успешно решены следующие задачи: 1) показана связь структурно-функциональных изменений в печени млекопитающих и окислительного стресса, обусловленного антенатальной гипоксией, 2) доказано гепатопротективное и антиоксидантное действие неселективного агониста δ -/ μ -ОР даларгина и неопиатного аналога лей-энкефалина пептида НАЛЭ у 7- и 60-суточных белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию, 3) показана возможность коррекции постгипоксических изменений пролиферативных, анаболических и свободнорадикальных процессов в печени с помощью неонатального введения исследуемых аналогов лей-энкефалина у новорожденных и полновозрелых белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии. Решение перечисленных задач имеет важное значение для развития медико-биологических исследований в данной области. По актуальности, научной новизне и

практической значимости диссертационная работа О.Г. Пинаевой 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. №842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), а сам автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03. – патологическая физиология.

Отзыв обсужден на заседании Отдела общей патологии и патофизиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», протокол № 269 от 2 апреля 2018 г.

Заведующий Отделом общей патологии и
патофизиологии Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Институт экспериментальной
медицины», д-р биол. наук (14.03.03,
03.01.04), доцент

Шамова О.В.

Контактная информация Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»:
Адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12
Телефон: (812) 234-6868, факс: (812) 234-9489, E-mail: iem@iemrams.ru



Шамова О.В.