

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Волкова Александра Михайловича

на диссертационную работу Мозолевой Софьи Павловны

«Структурные изменения в печени новорожденных мышей разных линий при  
внутриутробных гипоксии и кандидозном инфицировании», представленную

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.02 патологическая анатомия

### Актуальность проблемы.

Ведущее место среди перинатальной патологии занимают патологические состояния, возникающие во внутриутробном периоде. Среди основных из них остаются в настоящее время внутриутробная гипоксия и инфекционно-воспалительные процессы, среди последних в частности особое место занимает грибковая инфекция. Учитывая высокую распространенность данных внутриутробных заболеваний, сопровождающихся в постнатальном периоде рядом осложнений и хронизацией патологических процессов, выбор экспериментальной модели этих состояний в настоящей диссертационной работе не случаен и актуален. Такой выбор так же обусловлен отсутствием данных по структурным изменениям клеток Купфера печени именно у новорожденных.

Особую роль в развитии тканевых, внутриклеточных, патологических и адаптационных изменений составляют и индивидуальные особенности реагирования на однотипные воздействия. Что так же было учтено в исследовании, в котором представлены генетически отличающиеся линии мышей СВА и С57В1/6 по ряду иммунных, эндокринных и морфологических параметров. Выбор органа мишени – печени, а в ней клеток Купфера и очагов экстрамедуллярного кроветворения для субклеточной и гистохимической оценки патологических и адаптационных изменений также актуален, так как именно от резервов адаптации

этих клеток к воздействию повреждающих факторов будет зависеть общий исход для организма в целом.

Таким образом, изучение ультраструктурной и иммуногистохимической перестройки не паренхиматозных клеток печени при инициации внутриутробной патологии у новорожденных мышей различных генетических линий является актуальной задачей современной патологической анатомии. Решение ее и явилось основой для цели настоящего исследования.

#### **Научная новизна.**

В результате ультраструктурного исследования клеток Купфера и иммуногистохимического анализа экспрессии иммуногистохимической экспрессии матриксной металлопротеиназы 9 (ММР-9) и тканевого ингибитора 1 типа (TIMP-1) непаренхиматозными клетками печени у оппозитных линий новорожденных мышей были получены параметры физиологической нормы с генетически обусловленными различиями. На основании этих данных уже на модели хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробного кандидоза убедительно показано, что у мышей линии СВА в клетках Купфера присутствуют компенсаторные процессы, которые проявляются сохранением объема мембран гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий, а у мышей линии С57В1/6 напротив имела место гипоплазия мембран органелл, а также при однотипном увеличении объемной плотности вакуолярного аппарата более выраженная фагосомальная персистенция грибов кандиды, что может способствовать генерализации инфекционного процесса. Исследование иммуногистохимической экспрессии ММР-9 и TIMP-1 выявили их дисбаланс при внутрикандидозной инфекции в зависимости от генетической детерминации. У мышей С57В1/6 преобладала экспрессия тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы над экспрессией ММР-9, а у мышей линии СВА преобладала экспрессия ММР-9, т.е. соотношение ММР-9/ TIMP-1 было больше 1.

Кроме того, полученные данные демонстрируют интересный результат. В норме линия мышей С57В1/6, имеющая более высокие значения по ультраструктуре в белоксинтезирующей, энергетической системах по сравнению с линией СВА, в условиях патологии быстро декомпрессирует, а у линии СВА



сохраняется резерв адаптации. Исследование матриксных металлопротеиназ в частности приоткрывают занавес на эти парадоксальные явления.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации**

**Достоверность проведенного исследования** базируется на большом объеме практического материала. Экспериментальное исследование по моделированию внутриутробной гипоксии и кандидозного инфицирования выполнено на 60 новорожденных мышатах 2-х оппозитных линий СВА и С57В1/6. В диссертационной работе широко использованы современные и адекватные поставленным задачам методы гистологического, иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования, выполнена широко охватывающая морфологические структуры морфометрия.

### **Практическая значимость.**

Практическая ценность работы не вызывает сомнений: полученные данные существенно расширяют представления об особенностях развития гипоксических состояний и воспалительной реакции в печени при кандидозной инфекции в зависимости от индивидуальных особенностей организма. Эти данные могут быть использованы для разработки методических рекомендаций, применение которых в работе патоморфологов позволит повысить уровень морфологической оценки патологических состояний и улучшить качество выполняемых исследований.

### **Структура и объем диссертации.**

Диссертационная работа содержит все необходимые разделы. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований вместе с обсуждением полученных результатов, включающей 3 подглавы, выводов, которые полностью соответствуют задачам исследования, заключения. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами и 51 рисунком. Список использованной литературы включает в себя 285 работ, из них 130 зарубежных, с преобладанием работ за последние 10 лет.

**Введение** содержит информацию об актуальности данного исследования, его научной новизне, теоретической и практической ценности, сформулированы цель и задачи, положения, выносимые на защиту, уровень достоверности и апробации

результатов, а также данные, касающиеся структуры диссертации и опубликованных работ.

**В главе «Обзор литературы»** проведен анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования. Рассмотрены значения гипоксических состояний, внутриутробных инфекций и генетических особенностей (на примере межлинейных различий) на развитие плода и новорожденного, Представлены сведения о происхождение клетки Купфера, механизмах взаимодействий клетки Купфера и гепатоцитов. Также в первой главе даны краткие сведения о металлопротеиназе-9 и тканевом ингибиторе-1.

**Вторая глава** диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования. Экспериментальная работа выполнена на беременных мышах линии СВА и С57В1/6 и их потомстве (однодневные мышата). Для изучения патологических изменений в печени использовались модели хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробного кандидозного инфицирования. Для решения поставленных задач мышата линий СВА и С57В1/6 были поделены на 6 групп по 10 животных в каждой, что вполне достаточно для обоснования результатов и выводов выполненного исследования. Методический уровень очень высок. В работе использовались светооптические методы, иммуногистохимическое исследование, включающее оценку экспрессии MMP-9 и TIMP-1 клетками печени, электронная микроскопия и расширенная морфометрия ультраструктур купферовских клеток. После статистической обработки данных были получены достоверные результаты.

**В главах по результатам собственных исследований** в начале был проведен морфометрический анализ ультраструктуры клеток Купфера у новорожденных мышей обеих линий в условиях нормы. Были определены определенные различия и сходства по ряду показателей: по численной плотности митохондрий, по соотношению в них поверхностной и объемной плотности, по величинам объемной и поверхностной плотности гранулярной эндоплазматической сети. Анализ экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени и в гепатоцитах в условиях нормы линейных различий не выявил.

Далее в работе представлены данные ультраструктурных изменений у мышей обеих линий подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии,



который проанализированы относительно друг друга и сопоставлены с физиологической нормой. Было отмечено, что значительно уменьшилась численная плотность митохондрий в купферовских клетках у мышей СВА относительно нормы и в отличие от мышей C57B1/6 у которых данный показатель не изменялся. При этом в последней группе отмечалось уменьшение величин объемной и поверхностной плоскостей гранулярно эндоплазматической сети. Имели место и отличия по вакуолярному аппарату купферовских клеток- уменьшение численной плотности первичных лизосом в 8 раз в группе C57B1/6 и уменьшение вторичных лизосом у мышей обеих групп. При анализе экспрессии ММР-9 и ТИМР-1 было обнаружено значительное линейное различие по количеству экспрессирующих клеток печени. На основании этого было сделано предположение, что у мышей линии СВА данную реакцию можно отнести к компенсаторным, которые у данной линии были более адекватны по сравнению с линией C57B1/6, которая в норме имела более высокие уровни показателей обменных и энергетических процессов.

Следующая глава посвящена исследованию ультраструктуры клеток Купфера у новорожденных мышей внутриутробно инфицированных *C. albicans*. Анализ морфометрических параметров проводился по аналогичной схеме и показал, что, не смотря на сходство общих реакций в купферовских клетках у мышей обеих линий существуют и отличия, выраженность которых определяется данной линией. У новорожденных мышей линии C57B1/6 было характерно формирование катаболической направленности обменных процессов в купферовских клетках, о чем свидетельствовало уменьшение объема мембран цитоплазматических органелл. Отмеченный прирост фаголизосом был объяснен необходимостью уничтожения поврежденных клеточных компонентов и элементов гриба. На основании всех полученных данных было сделано заключение, что адаптивные возможности купферовских клеток и других непаренхиматозных клеток печени у новорожденных мышей после перенесенной внутриутробной патологии зависит не столько от конкретного этиологического фактора- гипоксия или инфицирование, сколько от линии мышей, при этом максимальное напряжение адаптационно-приспособительных реакций отмечено в печени новорожденных мышей линии СВА, перенесших внутриутробную патологию в отличие от мышей линии C57B1/6, где они были истощены.



**Выводы** диссертационной работы полностью соответствуют задачам и результатам исследования.

По теме диссертации опубликовано достаточное количество печатных работ – 13, из них 5 статей по списку ВАК.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. В тоже время, при рассмотрении данной работы возникают вопросы уточняющего характера.

1. Матриксные металлопроиназы сами по себе способствуют деградации паренхимы печени, или их повышение — это компенсаторная реакция на уже существующие дегенеративные изменения? Можно ли оценивать уровень экспрессии ММП как маркер выраженности постдегенеративного склероза?
2. В работе имеет место утверждение, что преобладание TIMP-1 над MMP-9 в клетках печени уменьшает негативные последствия антенатального гипоксического фактора на печень. Вопрос - или преобладание TIMP-1 является следствием меньшей степени повреждения.
3. В работе указывается на связь повышенного уровня экспрессии MMP-9 с высокой эффективностью фагоцитоза. А если ли данные подтверждающие влияние MMP на деградацию клетки гриба?

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

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Мозолевой Софьи Павловны на тему «Структурные изменения в печени новорожденных мышей разных линий при внутриутробных гипоксии и кандидозном инфицировании», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Надеева Александра Петровича и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 патологическая анатомия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненного автором исследования содержится решение актуальной задачи – изучение роли клетки Купфера, матриксной металлопротеиназы 9 (MMP-9) и тканевого ингибитора 1 типа (TIMP-1) в печени в условиях нормы, при хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробном кандидозном инфицировании у новорожденных, что имеет существенное значение для патологической анатомии.

Работа Мозолевой Софьи Павловны по актуальности, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов

соответствует всем требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Официальный оппонент,  
в.н.с. лаборатории экспериментальной  
хирургии и морфологии Центра новых  
технологий ФГБУ «НМИЦ  
им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава  
России, доктор медицинских наук  
(14.03.02 патологическая анатомия)  
«3» ноября 2019 г.

Волков А.М

Волков Александр Михайлович  
Адрес: 630055 Российская Федерация,  
Новосибирская область, г. Новосибирск,  
ул. Речкуновская, 15.  
Телефон: 8- 913-914-09-98  
e-mail: [a\\_volkov@meshalkin.ru](mailto:a_volkov@meshalkin.ru)

Подпись Волкова А.М. заверяю  
Заместитель директора по научно-  
организационной работе ФГБУ  
«НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина»  
Минздрава России, доктор медицинских  
наук



Артеменко С.Н.