

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Жуковой Натальи Анатольевны 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. Ведущая роль среди непосредственных причин перинатальной заболеваемости и смертности принадлежит гипоксии плода. Эта патология, как правило, является следствием плацентарной недостаточности, сопровождающей практически все осложнения беременности - невынашивание, гестозы, преждевременные роды, острую или хроническую инфекции, возбудители которой способны преодолевать плацентарный барьер (вирусы, бактерии, грибы, в том числе рода *Candida*).

Эффекты антенатальной гипоксии на организм ребенка зависят от тяжести ее воздействия, индивидуальной толерантности, сроков внутриутробного развития и степени чувствительности органа к гипоксии. Наиболее уязвимыми являются органы с высокой интенсивностью метаболических процессов, прежде всего головной мозг, миокард, печень. Печень плода является первым органом, куда попадают все трофические субстраты, микроорганизмы и/или их токсины, поступающие к плоду от матери.

Внутриутробная гипоксия является частой причиной дисфункции печени у новорожденных. У новорожденных, перенесших гипоксию в перинатальном периоде, ведущим звеном в патогенезе печеночной дисфункции является повреждение структуры гепатоцитов с последующим нарушением их функции. В противомикробном ответе организма, повреждении и регенерации печени важна роль ее непаренхиматозных клеток, особенно клеток Купфера, которые, синтезируя и секретируя металлопротеиназы и их ингибиторы, активно участвуют в воспалении и последующем ремоделировании органа. Однако механизмы повреждения печени и их морфологические проявления остаются недостаточно изученными.

К настоящему времени большая часть данных, касающихся ультраструктуры КК и роли MMPs в патогенезе повреждения печени, получена на взрослых

пациентах или в эксперименте на половозрелых животных. В этой связи важнейшей задачей является дальнейшее углубленное изучение роли КК в печени детей или новорожденных. Все вышеперечисленное свидетельствует о большой актуальности и значимости проблемы, в рамках которой выполнялось диссертационное исследование Мозолевой С.П.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации. Основные положения и выводы диссертации Мозолевой С.П. основаны на результатах собственных исследований, выполненных на достаточном объеме экспериментального материала: 36 самках и 9 самцах каждой линии (90 животных). Хроническую внутриутробную гипоксию моделировали в герметичной барокамере с подъемом на высоту 9000 м. Внутриутробное кандидозное инфицирование осуществляли под наркозом путем введения в область плаценты суточной культуры *C. Albicans*. Гистологическое исследование проведено методами световой и электронной микроскопии с применением обзорных, гистохимических и иммуногистохимических методик окрашивания. Морфометрическое исследование ультраструктур купферовских клеток проведено на электронограммах с определением объемной плотности цитоплазмы, свободной от органелл, первичных и вторичных лизосом, митохондрий, гранулярной эндоплазматической сети (ГЭПС); поверхностной плотности (Sv) мембран митохондрий, ГЭПС.

Достаточный объем наблюдений, применение современных методов анализа экспериментального материала, использование сертифицированного оборудования, адекватная статистическая обработка результатов позволили автору получить новые данные о влиянии внутриутробной гипоксии и внутриутробной кандидозной инфекции на состояние ультраструктур купферовских клеток и сформулировать научные положения и выводы, объективность и высокая степень достоверности которых сомнений не вызывает.

Научная новизна. Автором впервые установлено, что у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 ультраструктурная организации КК, экспрессия ММР-9, TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени, как в условиях нормы, так и после воздействия внутриутробных патогенных факторов имеют межлинейные различия.

Впервые показано, что у новорожденных мышей линии СВА при хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробном кандидозном инфицировании компенсаторные процессы проявляются сохранением объема мембран гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий в КК. У новорожденных мышей линии С57В1/6 при внутриутробной патологии в КК отмечено снижение показателей мембран органелл, характеризующих белково-синтетический и энергообразующий аппараты клетки.

Впервые установлено значительное увеличение объемной плотности вакуолярного аппарата за счет фагосом при внутриутробном кандидозном инфицировании в КК у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, в том числе с персистенцией грибов *C. albicans*, более выраженном у новорожденных мышей линии С57В1/6. Это может создавать предпосылки для генерализации кандидозного инфекционного процесса.

Впервые в сравнении показано при внутриутробной хронической гипоксии и внутриутробном инфицировании *C. albicans*, что в печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, наблюдается дисбаланс в системе протеолиз/антипротеолиз, что проявляется изменением соотношения экспрессии ММР-9/ТИМР-1 непаранхиматозными клетками печени. Установлена зависимость данного соотношения от причин внутриутробной патологии и от линии животных.

Практическая значимость. Расширены представления о морфофункциональных особенностях КК и их возможного влияния на паренхиму печени новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, подвергшихся внутриутробной патологии.

Полученные данные об ультраструктурных изменениях в клетках Купфера, характере экспрессии ММР-9, ТИМР-1 и соотношении их активностей в непаранхиматозных клетках печени могут быть полезны для понимания патогенеза внутриутробных гипоксии и кандидозного инфицирования у новорожденных, а также для разработки методов профилактики и лечения этих состояний.

Определение экспрессии ММР-9, ТИМР-1 и их соотношения ММР-9, ТИМР-1 в качестве биомаркера в крови пациентов позволит улучшению качества диагностики и лечения заболеваний, обусловленных внутриутробной патологией.

Результаты исследования могут служить обоснованием необходимости учета индивидуальных особенностей реагирования плода и новорожденных на внутриутробную патологию (внутриутробное кандидозное инфицирование и внутриутробная хроническая гипоксия).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии по темам «Перинатальная патология», «Воспаление», «Смерть клетки» и кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии в теме «Печень», «Эмбриогенез печени» ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России.

Структура и объем диссертации. Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 152 страницах машинописного текста: состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 285 источниками, из которых 130 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 14 таблиц и 51 рисунка.

Во «Введении» изложена актуальность темы, обоснованы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Тема работы достаточно полно отражена в цели исследования, достичь которую позволяет чёткое поэтапное решение задач.

Обзор литературы посвящен проблеме внутриутробной гипоксии и внутриутробного инфицирования, отражает современные представления об этиологии, патогенезе этих состояний, их влиянии на развитие плода и новорожденного. В обзоре представлены сведения о происхождении клеток Купфера, механизмах взаимодействий с гепатоцитами, даны сведения о металлопротеиназе-9 и тканевом ингибиторе-1. Диссертантом показано хорошее знание современной литературы по изучаемой тематике, достаточно полно освещены новейшие данные, цитируются источники последних 3 – 5 лет.

Во второй главе представлена подробная характеристика материалов и методов исследования. Работа основана на применении комплексного

патоморфологического анализа с использованием методов световой и электронной микроскопии, иммуногистохимии, морфометрии.

В следующих главах последовательно изложены результаты собственных исследований и их обсуждение. Автором подробно представлены результаты патоморфологического и морфометрического исследования клеток Купфера, детально изучена их ультраструктура и механизмы взаимодействия с гепатоцитами. Изучена роль непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1, установлены отличия в соотношении их экспрессий у мышей разных линий. Диссертационная работа характеризуется четким, последовательным изложением, написана грамотно, аккуратно оформлена, содержит 14 таблиц и 51 рисунок, которые отображают полученные результаты.

Выводы диссертации сформулированы корректно, обоснованы имеющимися в диссертации результатами, логически из них вытекают.

Автореферат полностью отражает основные положения и выводы диссертации. Материалы исследования многократно апробированы, были доложены на научных конгрессах и научно-практических конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных исследований, из них 1 в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Все вышеперечисленное позволяет высоко оценить диссертацию Мозолевой Софьи Павловны. Принципиальных замечаний и вопросов по существу диссертационного исследования нет.

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 д.м.н. проф. Надееева А.П., является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для развития медицины (патологической анатомии) – изучено и расширено представление о роли клетки Купфера, матриксной

металлопротеиназы 9 (ММР-9) и тканевого ингибитора 1 типа (TIMP-1) в печени новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6 в условиях нормы, при хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробном кандидозном инфицировании.

Работа Мозолевой Софьи Павловны по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикации материалов в научных печатных изданиях соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Официальный оппонент: доктор медицинских наук
(специальность 14.03.02 – Патологическая анатомия),
ведущий научный сотрудник лаборатории
фармакологических исследований Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
«Новосибирский институт органической химии имени Н. Н. Ворожцова»
Сибирского отделения
Российской академии наук

Жукова Наталья Анатольевна

Адрес учреждения:
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 9
Телефон: +7(383)330-36-63
<http://web.nioch.nsc.ru/>
benzol@nioch.nsc.ru

«22» ноября 2019 г.

Подпись Жуковой Н.А. заверяю
Ученый секретарь ФГБУН
Новосибирского института органической химии
им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
кандидат химических наук



Бредихин Р.А