

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Гусаковой Светланы Валерьевны на диссертационную работу Денисенко Оксаны Дмитриевны «Структурно-функциональные свойства эритроцитов крови у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### Актуальность исследования

Известно, что адаптация новорожденных включает в себя совокупность реакций организма матери и ребенка, которые направлены на поддержание физиологических констант. Адаптационные особенности периода новорожденности зависят от организма матери, течения беременности и родов. Гипоксия плода представляет собой комплексные изменения в организме, возникающие в результате нарушения снабжения кислородом органов и тканей. Перинатальная гипоксия, связанная с изменениями плацентарного кровообращения, приводит к активации оксидативных процессов в организме плода, являясь пусковым механизмом гипоксических повреждений у новорожденных в неонатальном периоде. Длительный дефицит кислорода в крови снижает компенсаторные реакции организма и оказывает негативное влияние на эритроциты, которые крайне чувствительны к нарушениям гомеостаза. Согласно многочисленным исследованиям, существует тесная двусторонняя связь между состоянием организма и морфофункциональными изменениями эритроцитов. В частности, по уровню адренореактивности эритроцитов можно судить о развитии стрессовой ситуации в организме, которая возникает в процессе его адаптации к новым экстремальным условиям среды. Кроме того, изменения функциональных свойств эритроцитов под влиянием гипоксии приводят к повышенной деформируемости и проницаемости их мембран, что проявляется снижением газотранспортной функции красных клеток. Однако, несмотря на многочисленные данные, на сегодняшний день нет четкого понимания о влиянии перенесенной перинатальной гипоксии на показатели адренореактивности эритроцитов и изменение их морфологических характеристик у новорожденных. В связи с

вышесказанным, изучение структурно-функциональных свойств эритроцитов новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, обладает практической значимостью и является актуальной задачей современной медицинской науки.

### **Научная новизна исследования**

Научная новизна представленной работы не вызывает сомнений и обоснована полученными новыми данными о изменении морфофункциональных характеристик эритроцитов, которые направлены на обеспечение их жизнедеятельности и выполнение газотранспортной функции в условиях гипоксии. В ходе исследования впервые установлено, что показатели  $\beta$ -адренореактивности эритроцитов, определяемые в сосудах пуповины новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, в целом, зависят от степени компенсации ацидоза, выявленной при рождении. Оригинальными данными являются результаты о росте содержания молодых форм эритроцитов в артериальной крови вены пуповины у новорожденных с ацидозом, выявлена их прямая зависимость с величиной рН и показателем  $\beta$ -адренореактивности эритроцитов.

В рамках исследования получены принципиально новые данные об изменении формы эритроцитов (пойкилоцитоз) и их размеров (анизоцитоз) в остаточной пуповиной крови новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию. Показано, что морфологический состав эритроцитов у детей с ацидозом представлен сниженным (в сравнении с новорожденными без перинатальной гипоксии) количеством нормальных форм эритроцитов. Приоритетными являются данные о морфоструктурных нарушениях эритроцитов в раннем неонатальном периоде. В работе приведены убедительные доказательства, что у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, на фоне нормализации показателей кислотно-основного состояния крови, выявленные изменения форм эритроцитов и их размеров сохраняются в течение всего раннего неонатального периода (7 суток после рождения).

### **Практическая значимость**

Практическая значимость диссертационной работы О.Д. Денисенко определяется тем, что применяемые соискателем методы (экспресс-метод

определения адренореактивности организма и метод атомно-силовой микроскопии) могут быть внедрены в клиническую практику для раннего выявления нарушений симпатoadреналовой системы, а также для оценки морфофункциональных характеристик эритроцитов крови у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

В диссертационном исследовании соискателем сформулировано шесть выводов, которые полностью отражают полученные автором данные. Обоснованность и достоверность сформулированных выводов подтверждена высоким научно-методическим уровнем выполнения диссертационной работы и продуманным дизайном исследования. В представленной работе приведены результаты анализа значительного объема фактического материала, полученного непосредственно автором в ходе выполнения данного исследования. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, подвергнуты корректной и адекватной статистической обработке. Автор применил современные и достаточные методы для получения информации по решению сформулированных в работе задач. Результаты работы неоднократно обсуждены на конференциях и съездах, в достаточной степени представлены широкому кругу исследователей в 16 публикациях, 4 из которых – статьи в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ. Полученные О.Д. Денисенко данные используются в учебном процессе образовательного научного кластера «Институт медицины и наук о жизни (ОНК МЕДБИО)» БФУ им. И. Канта г. Калининград.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями и построена по традиционному плану: состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка источников литературы. Текст диссертации изложен на 109 страницах машинописного текста и проиллюстрирован 23 рисунками и 5 таблицами. В

заклучении диссертации приведена информативная схема, суммирующая полученные диссертантом результаты.

Список литературы содержит 245 источников, из которых 113 отечественных и 132 иностранных авторов, включая электронные ресурсы.

**Во введении** отражены актуальность и новизна работы, четко сформулированы цель и задачи исследования.

**Обзор литературы (Глава 1).** Значительная часть главы «Обзор литературы» посвящена описанию и анализу накопленных к настоящему времени сведений о морфологии, строении и функциях эритроцитов, подробно представлена современная схема эритропоэза человека. Детально изложены методы, применяемые в клинической практике для оценки морфоструктурных характеристик эритроцитов. Отдельная глава посвящена процессам нарушения и повреждения мембраны эритроцита и оценке осмотической резистентности этих клеток. Подробно освещено понятие адренореактивности эритроцитов и тщательно проанализированы изменения адренореактивных свойств тканей организма. Отдельная глава в обзоре литературы посвящена раннему неонатальному периоду новорожденных, адаптационным особенностям детей в период новорожденности. В конце главы обоснована необходимость обращения к выбранной теме исследования.

**В главе материалы и методы исследований (Глава 2)** содержится описание дизайна эксперимента, использованных в нем методов исследования (биохимические методы, световая и атомно-силовая микроскопия). В исследовании приняли участие 135 новорожденных, родившихся через естественные родовые пути. В соответствии с задачами исследования, диссертантом было выполнено 2 блока исследований. Подробно представлены критерии включения и исключения в исследование, а также методы статистического анализа полученных данных. Кроме того, указано, что работа проводилась с соблюдением всех биоэтических норм и в соответствии с одобрением комиссии по этике Балтийского федерального университета им. И. Канта: №1 от 28.02.2020 г.

**Собственные результаты исследования (Глава 3)** содержат последовательное описание данных, полученных диссертантом в ходе проведенного исследования. В главе 3, в соответствии с разработанной соискателем схемой, отражены все этапы исследования. Обращает на себя внимание большой объем проведенных исследований. Бесспорным преимуществом диссертационной работы является комплексный подход к изучению общих закономерностей и особенностей морфофункциональных изменений эритроцитов при перинатальной гипоксии. Каждый подраздел отражает отдельные этапы эксперимента, нацеленные на решение поставленных автором задач. Результаты приведены в виде рисунков и таблиц, сопровождаемых подробными комментариями. Важно отметить системное и не перегруженное изложение диссертантом данных собственного исследования.

**В 4 главе** представлен анализ и обсуждение полученных экспериментальных данных. Оценивая собственные результаты и данные современной литературы, соискатель приходит к обобщающим выводам: воздействие внутриутробной перинатальной гипоксии на изменение функционального состояния эритроцитов происходит уже внутриутробно. Активация симпатoadреналовой системы влечет за собой нарушение функциональной активности эритроцитов крови, изменение структуры мембраны и появлению молодых форм эритроцитов в кровяном русле. Выявленная вариабельность показателей адренореактивности эритроцитов свидетельствуют о влиянии степени перинатальной гипоксии на гомеостаз. Ацидоз, как следствие перинатальной гипоксии, оказывает воздействие на мембрану эритроцитов новорожденных, обнаружены адаптационные изменения в виде изменения высот и пространственных периодов поверхности мембраны эритроцитов. Течение раннего неонатального периода у детей, перенесших перинатальную гипоксию, характеризовалось стабильностью выявленных изменений на фоне нормализации кислотно-основных показателей крови.

**Выводы** диссертационной работы полностью обоснованы и закономерно вытекают из результатов проведенного исследования.

Автореферат диссертации и публикации О.Д. Денисенко полностью отражают содержание и основные положения представленной работы.

Принципиальных замечаний, снижающих ценность представленного диссертационного исследования, нет. В ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Во втором блоке исследования критерием включения были новорожденные в сроке гестации 32-42 недели, с чем это связано?
2. С какой целью показатели адренореактивности эритроцитов и параметры кислотно-основного состояния (КОС) были исследованы в венозной и артериальной крови сосудов пуповины? Какой источник, на Ваш взгляд, наиболее полно отражает состояние новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию?
3. С какими механизмами, на Ваш взгляд, связана нестабильность мембран эритроцитов, оцениваемая по изменениям высот h1 (мембранный фликеринг) и h2 (цитоскелет, спектринный матрикс) у детей с гипоксией и без нее?

**Заключение.** Диссертационная работа Денисенко Оксаны Дмитриевны «Структурно-функциональные свойства эритроцитов крови у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение значимой для клеточной биологии задачи по установлению закономерностей возникновения морфофункциональных и структурных нарушений эритроцитов крови, которые, в дальнейшем, могут значительно расширить представления о влиянии гипоксии на развитие критических состояний у плода и новорожденных. Полученные автором результаты, научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, являются оригинальными, обоснованными и достоверными, имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

Диссертационная работа О.Д. Денисенко отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с Приказом Минобрнауки России № 1 от 9 января 2020 г.), необходимых для работы диссертационного совета.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой биофизики и  
функциональной диагностики  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

доктор медицинских наук, доцент

12.03.2024



Гусакова Светлана Валерьевна



Данные об авторе отзыва: Гусакова Светлана Валерьевна - доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биофизики и функциональной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2; тел.: 8 3822 901 101 доб. 1814; gusacova@yandex.ru