



Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
НИИФКИ

Ядринцевская, 14,
г. Новосибирск; 630099
телефон: (383) 222-26-74, факс: (383) 222-70-28
e-mail: info@niikim.ru
www.niikim.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального
государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»,
доктор биологических наук




А.Н. Силков

« 27 » 02 2024г

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» о научно-практической значимости о научно-практической значимости диссертации Денисенко Оксаны Дмитриевны на тему «Структурно - функциональные свойства эритроцитов у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Актуальность исследования. Асфиксия новорожденного является патологией раннего неонатального периода, и представляет важнейшую проблему современной медицины. Степень тяжести асфиксии определяется длительностью и интенсивностью гипоксии. Гипоксия плода является наиболее частой причиной мертворождения. Негативное влияние дефицита кислорода проявляется как внутриутробно, так и после рождения, приводя к различным заболеваниям у плода и новорожденного. Симпатоадреналовая система играет важнейшую роль в физиологическом ответе организма на внешние раздражители. Адренореактивность эритроцитов – важный информативный показатель, который отражает системные реакции организма в ответ на изменение симпатоадреналовой системы. Известно, что адренореактивность определяется типом, количеством и активностью адренорецепторов,

представленных на клетках организма. По уровню адренореактивности клеток можно судить о стрессовой ситуации в организме, которая развивается в процессе его адаптации к новым экстремальным условиям среды. Оксидативный стресс и ацидоз оказывают вредное воздействие на все клетки организма, в том числе на эритроциты, функции которых многочисленны и очень важны. Несмотря на активное исследование функциональных свойств красных клеток крови при патологических состояниях, данная проблема не теряет своей актуальности. В связи с вышесказанным, актуальность диссертационной работы О.Д. Денисенко, посвященная изучению структурно - функциональных свойств эритроцитов у новорожденных с признаками гипоксии, не вызывает сомнений и дает возможность характеризовать работу как перспективное исследование с высоким потенциалом практического применения полученных результатов.

Связь выполненной работы с планами соответствующих отраслей наук

Диссертационная работа выполнена на базе современного Центра иммунологии и клеточных биотехнологий (директор Центра – д-р мед. наук, Л.С. Литвинова). Проведение исследования было одобрено комиссией по этике Балтийского федерального университета им. И. Канта: протокол №1 от 28.02.2020 г. Диссертационная работа О.Д. Денисенко выполнялась в рамках Государственного задания (№ FZWM-2020-0010), а также согласно плану НИР Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта».

Новизна исследования и наиболее существенные научные результаты

Первостепенное значение диссертационной работы О.Д. Денисенко представляют данные по изучению адренореактивности эритроцитов артериальной и венозной крови, полученной из сосудов пуповины новорожденных. Научное значение имеет выявленная зависимость показателей β -адренореактивности эритроцитов крови у новорожденных, перенесших

перинатальную гипоксию от степени компенсации выявленного ацидоза. О.Д. Денисенко впервые выявлена взаимосвязь значений, определяющих количество ретикулоцитов в вене пуповины у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, и величин рН и β -адренореактивности эритроцитов крови. Автором приведены убедительные данные, демонстрирующие изменения эритроцитов в остаточной пуповиной крови новорожденных с признаками гипоксии: снижение содержания нормальных форм эритроцитов (нормоцитов), наличие пойкилоцитоза и анизоцитоза клеток. Современный метод сканирующей зондовой микроскопии позволил О.Д. Денисенко впервые выявить нарушения мембраны эритроцитов крови (мембранного фликеринга, цитоскелета и спектринного матрикса) более выраженные у новорожденных с признаками гипоксии, по сравнению с контрольной группой. Несомненный приоритет имеют данные о сохранении выявленных изменений эритроцитов на протяжении всего раннего неонатального периода на фоне нормализации кислотно-основных показателей крови.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Данные фундаментального характера, полученные в результате проведенного О.Д. Денисенко изучения морфофункциональных изменений эритроцитов в крови новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, позволят расширить теоретические знания о динамике изменений параметров поверхности эритроцитов крови у новорожденных с признаками гипоксии. Соискателем выявлены общие закономерности и особенности морфофункциональных изменений эритроцитов при перинатальной гипоксии. Следует отметить, что полученные автором данные, характеризующие адренореактивность организма у новорожденных, могут стать базисом для внедрения в клиническую практику метода определения β -адренореактивности эритроцитов, для оценки возможного развития нарушений, связанных с активацией симпатoadrenalовой системы у новорожденных. Вместе с тем, полученные О.Д. Денисенко данные, методом атомно-силовой микроскопии,

указывают на необходимость применения оборудования с высоким разрешением для более детального исследования морфологической формы, размера и структуры мембраны красных клеток крови у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию. Основные положения диссертационного исследования внедрены в учебный процесс научно-образовательного сообщества «Институт медицины и наук о жизни (ОНК МЕДБИО)» БФУ им. И. Канта г. Калининград.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа изложена хорошим научным языком, представлена на 109 страницах, построена традиционно: состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка использованной литературы. Библиографический указатель содержит 245 источников: из которых 113 отечественных работ и 132 – публикации зарубежных авторов. Диссертация содержит достаточное количество данных для анализа, имеет все необходимые пояснения, иллюстрирована 23 рисунками и 5 таблицами.

Порядок выполнения исследования отвечает современным методологическим требованиям. Работа имеет грамотное планирование, логическое построение и единство.

Введение написано по традиционной схеме и отражает актуальность исследования. Автор обосновывает целесообразность проведения данной работы, формулирует цель, задачи, научные положения.

Глава 1 «Обзор литературы» содержит анализ источников по разделам выполненной работы с четким обозначением дискуссионных и малоисследованных вопросов. В главе представлена существующая на сегодняшний день информация, посвященная эритроцитам и гипоксии плода. В обзоре Денисенко О.Д. подробно представила этапы гемопоеза, морфологию, строение и функции эритроцитов. В главе описаны основные понятия

резистентности эритроцитов, представлены процессы повреждения и нарушения мембраны красных клеток крови. Детально представлены различные методы оценки состояния эритроцитов и применение современного нанотехнологического инструмента (методы сканирующей электронной, интерференционной и атомно-силовой микроскопии), которые позволяют проводить анализ ультраструктуры эритроцитов и получать их изображения в трехмерном формате. Должное внимание О.Д. Денисенко уделяет ранней адаптации новорожденных и гипоксии плода. Автором детально описано проявление системных реакций организма при изменении активности симпатoadреналовой системы. Приведены данные современной литературы в отношении функционального состояния адренорецепторов мембраны эритроцитов.

Во 2-ой главе «Материал и методы исследования» обращает на себя внимание тщательный отбор новорожденных, участвующих в исследовании. Грамотный подбор адекватных критериев исключения связан с уменьшением вероятности влияния сопутствующей патологии на результаты высокоточных лабораторных методов исследования. О.Д. Денисенко представлена детальная характеристика изучаемых групп и методик исследования. Автор подробно описывает два блока исследования, материал и применяемые методики, схематично демонстрирует дизайн исследования.

В работе дана детальная характеристика автоматических расчетов параметров, характеризующих кислотно-основное состояние крови, описание применяемых методик с подготовкой материала: определение β -адренореактивности эритроцитов крови, подсчет ретикулоцитов и нормоцитов в мазках крови, определение морфологических характеристик эритроцитов методами световой и атомно-силовой микроскопии с подробным описанием характеристик применяемого оборудования, метод сканирования клеток в полуконтактном режиме с применением кремниевых кантилеверов, применение математического программного обеспечения FemtoScanOnline для сравнительного анализа размерных параметров клеток после

пространственного преобразования Фурье, а также методы статистической обработки.

В главе 3 «Результаты собственных исследований» подробно приведены и проанализированы данные, полученные в ходе выполнения собственных исследований, представленные в виде таблиц, рисунков с соответствующим описанием.

В 4 главе «Обсуждение полученных результатов» проведен тщательный анализ полученных результатов. Раздел написан подробно, и логично подводит к формулированию выводов. Глава содержит анализ и обсуждение полученных автором результатов исследования, а также сопоставление экспериментальных данных с современными научными исследованиями и концепциями об изменении функциональных способностей эритроцитов крови при гипоксии. Ссылаясь на данные научной литературы и на полученные результаты собственного исследования, О.Д. Денисенко обсуждает особенности морфофункциональных изменений эритроцитов у новорожденных с признаками гипоксии в раннем неонатальном периоде и приходит к выводу о том, что под действием перинатальной гипоксии активируется симпатoadреналовая система организма, увеличивается количество молодых форм эритроцитов, а также меняются структурно-функциональные свойства эритроцитов у новорожденных. Течение раннего периода адаптации у детей, перенесших гипоксию, характеризуется стабильностью выявленных изменений (анизоцитоз, пойкилоцитоз и нестабильность мембран) на фоне нормализации показателей кислотно-основного состояния крови.

Выводы диссертационной работы четко сформулированы, обоснованы, соответствуют поставленным задачам и полностью отражают результаты выполненного исследования.

Автореферат диссертационной работы достаточно полно отражает содержание и суть проведенного исследования.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов

Достоверность научных положений и выводов диссертации определяется достаточным, для достижения цели, количеством наблюдений, в правильно выбранных современных, высокоточных и инновационных лабораторных методах исследования. Применяемые в работе методики направлены на решение сформулированных целей и задач данного исследования. Основные положения, выводы и практические рекомендации диссертации последовательно обсуждаются и обосновываются в тексте, полностью соответствуют содержанию, подтверждены корректными методами статистического анализа и качественной иллюстрацией.

О.Д. Денисенко использованы современные методы статистической обработки полученных результатов проведенного исследования, что подтверждает достоверность полученных результатов.

В диссертационной работе автором приводятся результаты научно-исследовательских работ, которые были апробированы и представлены в виде докладов на российских и международных научных конференциях, в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК. Материалы выполненной диссертации представлены в научных изданиях, всего опубликовано 16 печатных работ, из них 4 в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией Российской Федерации для публикаций диссертационных исследований.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В процессе ознакомления с диссертацией принципиальных замечаний, снижающих ценность представленного диссертационного исследования, не возникло. В ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Согласно полученным Вами результатам, на поверхности мембраны эритроцита происходит процесс десенситизации, предполагается, что это многостадийный процесс, каковы основные его этапы? Эти изменения

патогномоничны исключительно для новорожденных, перенесших гипоксию или они универсальны для всех состояний, связанных с гипоксией?

2. В результате Вашего исследования определены формы эритроцитов, которые не входят в общепринятую классификацию. Какую классификацию для морфологической оценки эритроцитов Вы применяли в своем исследовании?
3. Вами в работе была выявлена нестабильность мембран эритроцитов (по изменениям высот h1 (мембранный фликеринг) и h2 (цитоскелет, спектринный матрикс)) у новорождённых, перенесших гипоксию и без нее. На Ваш взгляд, различаются ли механизмы формирования нестабильности мембран эритроцитов у детей, перенесших перинатальную гипоксию и у новорожденных без нее?

Заключение

Диссертация Денисенко Оксаны Дмитриевны на тему «Структурно-функциональные свойства эритроцитов у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение значимой задачи в области клеточной биологии, по расшифровке механизмов морфофункциональных деструктивных изменений эритроцитов под действием перинатальной гипоксии. Диссертационная работа Денисенко О.Д. полностью отвечает требованиям п.9 «О порядке присуждения ученых степеней» (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 №842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г №335, от 20 марта 2021 г № 426, с изменениями от 11.09.2021г. и 26.09.2023г), предъявляемым к диссертационным исследованиям на соискание степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв на диссертацию О.Д. Денисенко «Структурно-функциональные свойства эритроцитов у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию», обсужден и одобрен на расширенном заседании лабораторий

клинической иммунопатологии и молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), протокол № 3 от 27 февраля 2024 г.

Научный руководитель НИИФКИ,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН



Владимир Александрович Козлов

«24» 02 2024г

Подпись д.м.н., профессора,
Академика РАН В.А. Козлова заверяю:
Ученый секретарь НИИФКИ, к.б.н



Елена Давидовна Гаврилова

«24» февраля 2024г

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Адрес: 630099, Новосибирская обл., Новосибирск г., Ядринцевская ул., дом 14, тел. +7(383) 222-26-74; официальный сайт: www.niikim.ru; e-mail: info@niikim.ru, vakoz40@yandex.ru

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
в аттестационное дело Денисенко Оксаны Дмитриевны

Диссертация на тему «Структурно-функциональные свойства эритроцитов крови у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

Полное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание руководителя организации	Силков Александр Николаевич – доктор биол. наук, директор НИИФКИ
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание заместителя руководителя организации	Черных Елена Рэмовна – доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, зам. директора института по научной работе
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание, должность сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Козлов Владимир Александрович - доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель НИИФКИ
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных журналах за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<p>1. Е.А.Сметаненко, Н.А.Хонина, О.Ю.Леплина, М.А.Тихонова, Е.В.Баторов, Н.М.Пасман, Е.Р.Черных ЭКСПРЕССИЯ ИНГИБИТОРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ Т-КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 6. С. 1353-1362.</p> <p>2. Yu.A. Shevchenko, S.V. Sennikov, K.V. Nazarov STUDY OF PHENOTYPIC AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF ERYTHROID CELLS OF THE SPLEEN UNDER HEMATOPOIESIS-STIMULATING EFFECTS // Medical Immunology (Russia). 2023. Vol. 25. no. 3, pp. 495-500.</p> <p>3. Ращупкин И.М., Максимова А.А., Шевела Е.Я., Черных Е.Р. ВЛИЯНИЕ РАСТВОРИМЫХ ФАКТОРОВ МАКРОФАГОВ ЧЕЛОВЕКА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК SH-SY5Y В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ИШЕМИЮ И ГИПОКСИЮ IN VITRO // Патогенез. 2022. Т. 20. № 3. С. 115-116. Томск, 2022. С. 382-385.</p> <p>4. Назаров К.В., Перик-Заводский Р.Ю., Кузнецова М.С., Филиппова Ю.Г., Шевченко Ю.А., Денисова В.В., Силков А.Н., Сенников С.В. ПРОДУКЦИЯ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ ИНДУЦИРОВАННЫМИ ЭРИТРОБЛАСТАМИ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ //</p>

- Acta Biomedica Scientifica. 2022. Т. 7. № 5-1. С. 179-187.
5. Козлов В.А., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П., Селедцов В.И. ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК // Сибирский онкологический журнал. 2022. Т. 21. № 3. С. 42-49.
6. Назаров К.В., Перик-Заводский Р.Ю., Кузнецова М.С., Филиппова Ю.Г., Шевченко Ю.А., Денисова В.В., Силков А.Н., Сенников С.В. ПРОДУКЦИЯ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ ИНДУЦИРОВАННЫМИ ЭРИТРОБЛАСТАМИ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ // Acta Biomedica Scientifica. 2022. Т. 7. № 5-1. С. 179-187.
7. Заводский Р.Ю., Шевченко Ю.А., Конева О.Ю., Назаров К.В., Кузнецова М.С., Сенников С.В. ИММУНОРЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЭРИТРОИДНЫХ ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК // Иммунология. 2022. Т. 43. № 1. С. 103-111.
8. Perik-Zavodskii R., Perik-Zavodskaya O., Shevchenko Yu., Denisova V., Nazarov K., Obleuhova I., Zaitsev K., Sennikov S. IMMUNE TRANSCRIPTOME AND SECRETOME DIFFER BETWEEN HUMAN CD71+ ERYTHROID CELLS FROM ADULT BONE MARROW AND FETAL LIVER PARENCHYMA // Genes. 2022. Т. 13. № 8. С. 1333.
9. Perik-Zavodskii R., Perik-Zavodskaya O., Shevchenko Ju., Denisova V., Alrhoun S., Volynets M., Tereshchenko V., Zaitsev K., Sennikov S. IMMUNE TRANSCRIPTOME STUDY OF HUMAN NUCLEATED ERYTHROID CELLS FROM DIFFERENT TISSUES BY SINGLE-CELL RNA-SEQUENCING // Cells. 2022. Т. 11. № 22. С. 3537.
10. Сенников С.В., Альшевская А.А., Жукова Ю.В., Беломестнова И.А., Караулов А.В., Лопатникова Ю.А. ПЛОТНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ К ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫМ МЕДИАТОРАМ КАК МОДУЛИРУЮЩИЙ КОМПОНЕНТ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МЕДИАТОРОВ НА КЛЕТКУ. ЧАСТЬ 1 // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21. № 2. С. 209-220.
11. Сенников С.В., Альшевская А.А., Жукова Ю.В., Беломестнова И.А., Караулов А.В., Лопатникова Ю.А. ПЛОТНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ К ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫМ МЕДИАТОРАМ КАК МОДУЛИРУЮЩИЙ КОМПОНЕНТ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МЕДИАТОРОВ НА КЛЕТКУ (ЧАСТЬ 2) // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21. № 3. С. 379-396.

Адрес ведущей организации

индекс	630099
объект	ФГБНУ "НИИ фундаментальной и клинической иммунологии"
город	Новосибирск
улица	Ядринцевская
дом	14
телефон	8 (383) 222-26-74, 8 (383) 222-66-27


e-mail	info@niikim.ru
Web-сайт	niikim.ru

Ведущая организация подтверждает, что согласно требованию п.24 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842:

1. соискатель ученой степени, научные руководители (научные консультанты) не работают в ведущей организации;
2. в ведущей организации не ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или работником организации-заказчика или исполнителем (соисполнителем).

Директор НИИФКИ
доктор биологических наук




А.Н. Силков

«26» декабря 2023 года