

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедры «Морфология, патология животных и биология» при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» Пудовкина Николая Александровича на диссертационную работу Кузиной Екатерины Юрьевны: «Перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс при моделировании гипероксидации и их регуляция растительными экстрактами», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки).

Актуальность темы диссертации и ее соответствие отрасли наук

Диссертационное исследование Е.Ю. Кузиной посвящено фундаментальной медико-биологической проблеме: изучению влияния экспериментально вызванной гипероксидации на процессы перекисного окисления липидов и противодействующие им антиоксидантные механизмы в печени крыс, а также роли растительных экстрактов в регуляции этих процессов. Актуальность темы определяется высокой распространённостью заболеваний печени – они удерживают одно из ведущих мест по заболеваемости и входят в число основных причин смерти в развитых странах. В работе подчёркнуто, что одним из ключевых патогенетических факторов при многих печёночных патологиях, включая растущую долю токсических поражений, является сдвиг равновесия в системе «прооксиданты – антиоксиданты», приводящий к состоянию гипероксидации.

Печень имеет защитные антиоксидантные системы, которые препятствуют негативным эффектам гипероксидации. Глютатионпероксидаза и каталаза обеспечивают разрушение перекиси водорода, супероксиддисмутаза обеспечивает интоксикацию супероксидного радикала, глютатионпероксидаза и глютатионредуктаза участвуют в элиминации других кислородных радикалов. Известно, что эти ферменты определяют устойчивость гепатоцитов к действию свободных радикалов в разных зонах печеночных долек. При действии свободных радикалов не обязательна гибель клеток, но реален эффект повышения чувствительности клеток к другим альтерирующим агентам.

Несмотря на наличие широкого спектра лекарственных препаратов для лечения заболеваний печени, их эффективность часто оказывается недостаточной. В то же время накоплены многочисленные данные о гепатопротекторных свойствах биологически активных соединений, содержащихся в растениях, которые реализуются через антиоксидантные и антирадикальные механизмы, а также через усиление эндогенной антиоксидантной защиты. Однако применение антиоксидантов для коррекции свободно-радикальных нарушений остаётся сложной и не до конца решённой задачей, так как активные формы кислорода, помимо разрушающего воздействия, выполняют важные внутриклеточные и

межклеточные регуляторные функции. В связи с этим возникает необходимость не только прямого подавления свободно-радикального окисления, но и стимулирования сопряжённых систем клеточной защиты, в том числе детоксикационных механизмов.

В этом контексте работа Кузиной Екатерины Юрьевны имеет высокую практико-теоретическую значимость и актуальность: автор всесторонне исследовал проявления дисбаланса перекисных и антиперекисных процессов в печени при модели гипероксидации и проследил, как эти изменения коррелируют с гистоморфологической перестройкой органа, с морфологическими и биохимическими показателями крови, с активностью монооксигеназных реакций, а также с репаративными и иммунными ответами в тканях. Полученные данные расширяют представления об окислительном гомеостазе и его роли в поддержании нормальной функций организма, а также создают научную базу для дальнейшего развития подходов к профилактике и коррекции нарушений работы печени с учётом взаимодействия антиоксидантных и детоксикационных систем.

Направление диссертационного исследования соответствует п. 1 – закономерности и механизмы поддержания постоянства внутренней среды организма; п. 2 – молекулярная и интегративная организация физиологических функций; п. 3 – закономерности и механизмы нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций.; п. 4 – закономерности функционирования основных систем организма (нервной, внутренней секреции, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, репродуктивной и др.) при различных состояниях организма. паспорта специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки).

Оценка содержания и качества оформления диссертации, степени завершенности исследования

Диссертация Кузиной Е. Ю. имеет классическую структуру, включающую введение, аналитический обзор литературы, главу, посвященную методологии и организации исследования, раздел с изложением полученных результатов, а также их обсуждение и общие выводы.

Библиографический список, представленный в конце работы, содержит 194 источника, из которых 131 являются отечественными и 63 – зарубежными. Обширность данного списка свидетельствует, во-первых, о глубоком понимании автором истории проблемы и современного состояния разработанности темы в мировой науке, а во-вторых, подчеркивает его осведомленность о достижениях российских исследователей в этой области.

Диссертация изложена на 166 страницах печатного текста, включает 11 таблиц и иллюстрирована 20 рисунками.

Во «Введении» автор аргументирует значимость выбранной темы, анализирует степень её изученности и на этой основе ясно формулирует цель работы и соответствующие задачи, показывающие этапы её реализации. Также изложены положения, выносимые на защиту.

Литературный обзор охватывает пять разделов, посвящённых анализу свободно-радикальных процессов в организме в норме, патогенетическим механизмам действия свободных радикалов, влиянию антиоксидантов на эти процессы при гипероксидации, функциональным нарушениям печени при гипероксидации, а также изучению растительных экстрактов как комплексов природных антиоксидантов, способных стабилизировать окислительный гомеостаз.

Обзор литературы в полной мере знакомит читателя с актуальным состоянием проблемы и подчёркивает её малоизученные аспекты. Обширный фактический материал, представленный в главе, свидетельствует о глубокой научно-теоретической подготовке диссертанта.

Раздел «Организация и методы исследования» демонстрирует тщательную проработку дизайна экспериментальной части, в которой применялись соответствующие физиологические, биохимические, гематологические и гистологические методы. В ходе исследования было задействовано 300 беспородных половозрелых белых крыс-самцов. В качестве материалов исследования использовались водные экстракты пижмы лекарственной и ежевики, а также масляный экстракт расторопши производства ООО «КоролевФарм» с концентрацией действующих веществ 3,5–4,0 %. Моделирование состояния гипероксидации осуществлялось путём внутримышечного введения крысам четырёххлористого углерода в виде 50 % масляного раствора на абрикосовом масле, в дозе 2 г/кг веса животного, на протяжении 6 дней.

Для исследования окислительного гомеостаза в тканях печени животных определяли активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, а также концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгатов стандартными лабораторными методами с использованием тестовых наборов фирмы Cloud-Clone Corp (USA) для лабораторных животных.

Для интегральной оценки свободно-радикальных процессов в тканях крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и экспериментальном моделировании гипероксидации применялся расчёт коэффициентов оксидативного стресса.

Исследование гистоморфологической структуры печени крыс в норме, на фоне нагрузки растительными экстрактами и моделировании гипероксидации проводили традиционными методами. Фрагменты центральных участков печени фиксировали в нейтральном забуференном 10 % растворе формалина. Гистологическую проводку материала осуществляли с использованием автоматической станции марки «STP-120» (Германии), для парафинизации блоков применяли систему «ЕС350» (Германии). Для приготовления микропрепаратов использовали ротационный микротом

«HM340E» («Microm Laborgerate GmbH», Германия). Визуализацию изображений осуществляли с использованием светового микроскопа «OLYMPUSBX51» (Япония). Морфометрию срезов печени анализировали с помощью программы «ImageScopeColor» и «cellSensStandart» (Россия) при увеличении окуляра SWH×10 и объективов UPLanFL ×200, ×400. Определяли среднюю площадь гепатоцитов и их ядер в мкм², а также вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Осуществляли подсчет двухъядерных гепатоцитов, производили расчет митотического индекса.

Кузина Е. Ю. также производила исследование приспособления морфологического и биохимического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами стандартными лабораторными методами. На основе полученных данных производила расчет лейкоцитарных индексов: ИСНМ, ИСЛМ, ИСЛЭ, индекс Бредекка, индекс Кребса.

Для изучения гепатозащитного действия растительных экстрактов в микросомальных фракциях печени животных определяли содержание микросомального белка и цитохрома P450, а также показатели скорости реакций гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина) и реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы.

При исследовании репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации применялся метод иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System (для тканей печени) и наборы для ИФА фирмы Thermo Scientific (для крови).

Корректность применения выбранных методик подтверждает высокий уровень научно-квалификационной подготовки диссертанта.

Из результатов экспериментов и их обсуждения следует, что введение природных антиоксидантов (в форме экстрактов) здоровым крысам снижает активность антиоксидантных ферментов благодаря их активному участию в процессе перекисного окисления липидов. Экстракты пижмы обыкновенной, ежевики (включая их смесь) и расторопши оказались весьма эффективными в защите организма от чрезмерной стрессовой реакции, вызванной тетрахлорметаном, которая обычно приводит к повреждениям. Хотя гипероксидация, возникающая вследствие токсического поражения печени, ухудшает функцию эндогенных антиоксидантов, усиливая окислительные процессы, введение экзогенных природных антиоксидантов (в виде растительных экстрактов) способствует восстановлению нарушенного гомеостаза. При этом наибольшую эффективность продемонстрировала смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

Установлено, что тетрахлорметан вызывает картину острого токсического гепатита с очаговыми некрозами печёночной паренхимы, но при нагрузке растительными экстрактами наряду с деструктивными изменениями в печени проявляются репаративные процессы и наибольший

положительный эффект отмечен при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики.

Установлено, что внутрижелудочное введение крысам растительных экстрактов вызывает изменения морфологического состава крови, проявляющиеся повышением количества эритроцитов и уровня гемоглобина, а также увеличением числа лейкоцитов в пределах физиологической нормы. На фоне гипероксидации отмечаются выраженные патологические сдвиги морфологических показателей крови, однако введение антиоксидантов ослабляет негативные эффекты, причем наибольшая эффективность наблюдается при использовании смеси растительных экстрактов.

Показано, что при гипероксидации возрастает активность печеночных ферментов-маркеров, а также амилазы, повышаются концентрации глюкозы, мочевины и креатинина в крови; в печени крыс уменьшается содержание цитохрома P450 и подавляется активность ферментов, отвечающих за гидрокселирование и конъюгацию, тогда как дополнительная нагрузка крыс антиоксидантами способствует восстановлению нарушенного гомеостаза, при этом наибольший положительный эффект отмечен для смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

Выявлено, что нагрузка крыс растительными экстрактами при моделировании гипероксидации, подавляет активацию тканевого и системного воспаления, предотвращает развитие дистрофического и воспалительного процессов в печени, а также стимулирует регенерацию печеночной ткани и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1.

Диссертация Кузиной Е. Ю. завершается аргументированными выводами, полностью соответствующими поставленным задачам и отражающими основное содержание работы. В работе представлены практические рекомендации по включению смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1 в схемы терапии и профилактики токсических поражений печени, поскольку эта комбинация растительных экстрактов эффективно стабилизирует окислительный гомеостаз организма.

Намечены перспективы для дальнейших исследований, касающихся изучения корреляционных взаимосвязей между перекисными и антиперекисными процессами в мозге, сердце и других органах, а также оценки стабилизации нарушенного окислительного гомеостаза с помощью растительных экстрактов.

Текст работы изложен хорошим литературным языком, практически без опечаток, читается легко. Диссертация Кузиной Е. Ю. представляет собой законченное научное исследование.

Научная новизна

В диссертационной работе Кузиной Е. Ю. показано, что введение водных экстрактов ежевики, пижмы обыкновенной, их смеси в соотношении 1:1 и экстракта расторопши крысам в состоянии физиологической нормы по-разному

снижает интенсивность перекисных процессов в ткани печени, а при моделировании гипероксидации способствует восстановлению нарушенного окислительного гомеостаза и наибольшую эффективность при этом демонстрирует именно смесь экстрактов.

Установлено, что в норме применение растительных экстрактов не влияет на гистоморфологическую структуру печени, тогда как при гипероксидации уменьшает долю гепатоцитов с дегенеративными изменениями за счёт снижения интенсивности перекисных процессов и повышения активности антиперексидантных механизмов и наибольшая эффективность отмечена для смеси пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

Установлено, что в норме нагрузка крыс изучаемыми растительными экстрактами сопровождается увеличением у них числа эритроцитов и лейкоцитов и повышением концентрации гемоглобина в крови в пределах физиологической нормы. Моделирование гипероксидации приводит к снижению количества эритроцитов и лимфоцитов, уменьшению концентрации гемоглобина и одновременному повышению числа лейкоцитов. При одновременной регуляции перекисного окисления растительными экстрактами эти неблагоприятные изменения уменьшаются, причем наиболее выраженный эффект отмечен при применении смеси экстрактов в соотношении 1:1.

В диссертационной работе показано повышение ряда биохимических показателей крови (щелочная фосфатаза, амилаза, глюкоза, креатинин, мочевины) при гипероксидации и их нормализация при нагрузке растительными экстрактами.

Впервые показано, что при модели гипероксидации у крыс экстракты пижмы обыкновенной и ежевики, их смесь в соотношении 1:1, а также экстракт расторопши проявляют в различной степени гепатопротекторные и детоксицирующие свойства, подавляет активацию тканевого и системного воспаления, предотвращает развитие дистрофических и воспалительных изменений в печени и стимулирует регенерацию печеночной ткани, при этом наибольшую эффективность демонстрирует смесь ежевики и пижмы в соотношении 1:1.

Научная и практическая значимость результатов исследования и рекомендации по их использованию

Диссертационная работа Кузиной Екатерины Юрьевны посвящена важной проблеме современной биологии и физиологии – исследованию влияния экспериментальной гипероксидации на процессы перекисного и антиперекисного окисления в тканях печени крыс и изучению роли растительных экстрактов в регуляции этих процессов в организме.

В результате экспериментального исследования получены данные, имеющие потенциальную практическую значимость. Показано, что применение смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1 эффективно восстанавливает равновесие между перекисными и антиперекисными процессами при моделировании гипероксидации, снижает дегенеративные изменения гистоморфологической структуры печени, нормализует морфологический и биохимический состав

крови и скорость монооксигеназных реакций, а также поддерживает репаративные и иммунные механизмы в тканях крыс, что свидетельствует о выраженном гепатопротекторном действии смеси экстрактов.

Получены новые экспериментально обоснованные данные о возможности использования экстрактов пижмы, ежевики и их смеси в соотношении 1:1 для разработки растительных лекарственных средств с целью профилактики и лечения токсических, в том числе лекарственных, повреждений печени, благодаря их выраженному гепатопротекторному эффекту.

Данные, полученные в ходе исследования, могут быть использованы в лекционных курсах и на практических занятиях в преподавании медико-биологических дисциплин (биология, физиология, биохимия, патологическая физиология), что апробировано на кафедре «Физиология» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, на кафедрах «Эпизоотология, патология и фармакология» и «Биоэкология и физиология сельскохозяйственных животных» ФГБОУ ВО СамГАУ, а также на кафедре «Медико-биологические дисциплины» Медицинского университета «Реавиз».

На основании полученных данных разработана «Программа для определения оксидативного стресса в тканях». Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023686110, 04.12.2023. Заявка от 21.11.2023 г.

Исследование Кузиной Е. Ю. вносит новый вклад в понимание механизмов развития гипероксидации в тканях и способах купирования ее негативных последствий.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Высокая достоверность проведённого экспериментального исследования обеспечена комплексным подходом. Она достигнута благодаря анализу современной отечественной и зарубежной литературы, что позволило корректно разработать дизайн исследования, а также сопоставить и интерпретировать собственные результаты с уже имеющимися данными. Надёжность подтверждается также проведением всех анализов в аккредитованных лабораториях с использованием современных научных методов (физиологических, биохимических, гематологических и гистологических). Кроме того, соблюдались принципы достаточного количества лабораторных животных, продуманной методики формирования групп сравнения, оптимального размера выборки и применения адекватных статистических методов с помощью программного пакета STATISTICA Application 10.0.1011.0.

Таким образом, результаты работы не вызывают сомнений, а научные положения и выводы характеризуются высокой степенью достоверности и обоснованности.

Полнота опубликования основных результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России (К2) для специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных, 1 статья в журнале,

индексируемом базой данных Scopus и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Результаты научной работы обсуждались на нескольких научно-практических конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы, положения диссертации и оформлен в соответствии с существующими требованиями.

Замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений по диссертационному исследованию нет. В тексте встречаются неточности, неудачные стилистические обороты, не снижающие ценности представленной работы. При ознакомлении с экспериментальной частью работы возникли следующие вопросы:

1. В работе Вы пишете, что животные контрольной (второй) группы в течение в течение 30-ти дней ежедневно объемом 1,5 мл получали дистиллированную воду, а животные других групп – в том же режиме получили растительные экстракты. Скажите, почему Вы использовали именно дистиллированную воду и для чего Вы ее вводили животным в течение 30 суток? Может быть животным контрольной группы ничего не нужно было вводить?

2. По каким параметрам Вы оценивали регенераторные процессы в печени экспериментальных крыс?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Кузиной Екатерины Юрьевны на тему: «Перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс при моделировании гипероксидации и их регуляция растительными экстрактами», выполненная под руководством доктора биологических наук, доцента Павловой Ольги Николаевны, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, содержащей решение важной научной задачи по изучению влияния модельной гипероксидации на перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс и роли растительных экстрактов в процессах регуляции перекисного окисления в организме

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, методологическому уровню, объему выполненных автором исследований, достоверности и новизне полученных результатов и обоснованности научных положений и выводов диссертационная работа Кузиной Екатерины Юрьевны «Перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс при моделировании гипероксидации и их регуляция растительными экстрактами», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки), соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановлений Правительства РФ от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.01.2023 № 101, от 16.10.2024 № 1382),

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Кузина Екатерина Юрьевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (специальности 03.03.01 – Физиология, 06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией), профессор, заведующий кафедрой «Морфология, патология животных и биология» при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»



«21» октября 2025 г.

Пудовкин Николай Александрович

Контактные данные: ФГБОУ ВО Вавиловский университет
410012, г. Саратов, пр-т им. Петра Столыпина зд. 4, стр. 3.
Тел. 8-8452-69-25-31, e-mail. niko-pudovkin@yandex.ru

Подпись доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой «Морфология, патология животных и биология», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Пудовкина Николая Александровича заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»



«21» октября 2025 г.

Марадудин Алексей Максимович