



«УТВЕРЖДАЮ»  
Проректор по научной работе  
БОУ ВПО РНИМУ им Н.И. Пирогова

Минздрава России

Д.В. Ребриков

«04» февраля 2016 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической ценности диссертационной работы Васильева Андрея Вячеславовича «Влияние опиоида периферического действия даларгина на клеточную пролиферацию *in vitro* и репаративную регенерацию костной ткани *in vivo*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

### Актуальность темы выполненной работы

Репаративная регенерация костной ткани - актуальная проблема медицины и биологии. Такие отрасли практической медицины, как травматология и ортопедия, хирургическая стоматология и челюстно-лицевая хирургия остро испытывают потребность в новых более эффективных препаратах для решения клинических задач, связанных с восполнением костного дефекта, его полного и скорейшего заживления. С момента открытия индукционного пути регенерации костной ткани продолжаются поиски и изучение биологически активных веществ, принимающих участие в этом процессе. Наиболее известной группой таких веществ являются костные морфогенетические белки (КМБ). Доказано их мощное стимулирующее неоостеогенез действие. В мире создаются новые препараты, обладающие высокой остеоиндуктивной активностью на их основе. Помимо КМБ в репаративной регенерации костной ткани участвуют и другие сигнальные молекулы. Определение их роли в этом процессе решает как фундаментальную задачу биологии и медицины, так и служит практическим

целям, связанным с созданием более эффективных препаратов и протоколов для лечения костных патологий. После обнаружения опиоидных рецепторов на клетках остеобластического дифферона и обнаружения высокой экспрессии гена проэнкефалина в созревающей костной ткани в период эмбриогенеза авторами этих работ высказано предположение, что стимуляция опиоидных рецепторов может ускорять неоостеогенез и при репаративной регенерации костной ткани. Однако существующие единичные публикации по этой тематике однозначно не доказывают ни эффективности самого воздействия опиоидов, ни их механизмов действия. В рецензируемой работе автор уделил внимание синтетическому аналогу лей-энкефалина периферического действия «Даларгину». Клинически установлено, что этот препарат способен ускорять регенерацию клеток эпителия в 1,5 – 2 раза. Ранее были высказаны только предположения и о влиянии даларгина на костную регенерацию, поэтому работа А.В. Васильева, посвященная изучению влияния опиоида периферического действия даларгина на репаративную регенерацию костной ткани *in vivo* является актуальной.

### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Впервые с помощью морфометрического анализа показано подавляющее неоостеогенез действие даларгина и стимулирующее действие его блокатора наркозона.

Впервые показано антипrolиферативное действие даларгина в отношении культуры клеток остеосаркомы линии HOS.

Автором установлено, что даларгин стимулирует пролиферацию, но не дифференцировку остеогенных клеток.

Разработан оригинальный способ аппроксимации и автоматического позиционирования срезов в пространстве для объектов цилиндрической формы, названный автором «математическая модель «резаный цилиндр»». Предложен алгоритм для визуальной оценки и морфометрии с помощью построения 3D модели по гистологическим срезам: от методики операции и

приготовления гистологических препаратов до последующего компьютерного анализа с выполнением реконструкции.

Адаптированный автором протокол двойного мечения тетрациклическими метками к модели критического дефекта теменных костей крыс дает возможность выполнять анализ динамики неоостеогенеза для участков регенерата любой формы.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование основано на изучении материала, полученного *in vivo* в ходе экспериментальной работы и в результате культуральной работы *in vitro*. Автором подробно проанализирована литература и четко определено направление исследований. Достоинством работы является применение обширной методической базы. Особо следует отметить использование трудоёмких способов приготовления и анализа гистологических образцов, а именно недекальцинированных шлифов костной ткани, компьютерной 3D-реконструкции, конфокальной микроскопии. Кроме того автором самостоятельно разработан и использован метод для более точной стереоморфометрии объекта исследования – модели критического дефекта теменных костей крыс.

В результате автором получены объективные количественные данные о влиянии даларгина и его блокатора налоксона на репаративную регенерацию костной ткани. Культуральная часть работы логически дополняет экспериментальную, и даёт представление о механизме действия даларгина. Полученные данные были проанализированы с помощью статистических методов. Адекватность примененных методов не вызывает сомнения. Таким образом, достоверность полученных результатов является бесспорной. Сформулированные автором выводы достоверны и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования.

Работа проиллюстрирована 38 рисунками очень хорошего качества и содержит подробные таблицы с данными о результатах исследования.

В автореферате и выводах результаты исследования отражены в полном объеме.

Основные положения диссертации прошли апробацию на 3 конференциях, в том числе 2 с международным участием. Автором опубликовано 7 работ, из них 3 – в ведущих российских, рецензируемых журналах, входящих в Перечень Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Полученные данные имеют важное теоретическое значение, так как выявляют подавляющее действие даларгина на неоостеогенез и раскрывают причину наблюдаемого эффекта.

Практическая ценность работы заключается в том, что выявленные эффекты даларгина и его блокатора налоксона могут лежать в основу разработок новых схем лечения костных патологий в отделениях травматологии и ортопедии, челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. Полученные данные о подавлении даларгином пролиферации линии опухолевых клеток остеосаркомы могут быть использованы для дальнейшего изучения даларгина, как антионкогенного средства.

Разработанные диссидентом методы и методические приёмы позволяют получить более точные количественные показатели при объективной оценке регенерации костной ткани *in vivo* и позволяют повысить качество таких исследований.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы**

Полученные автором результаты исследования о подавляющем неоостеогенез действии даларгина могут быть использованы в клинической

практике при планировании фармакотерапии во время лечения и реабилитации пациентов с костными травмами и патологиями.

Полученные данные о способности даларгина подавлять пролиферацию опухолевых клеток линии HOS и о противоположном его действии на их неопухолевый эквивалент – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки – следует включить в курс лекций по гистологии, патанатомии и фармакологии медицинских ВУЗов.

Структура диссертации традиционная. Работа написана хорошим литературным языком, иллюстрирована микрофотографиями и рисунками отличного качества, графиками.

Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

### **Заключение**

Диссертация Васильева Андрея Вячеславовича «Влияние опиоида периферического действия даларгина на клеточную пролиферацию *invitro* и репаративную регенерацию костной ткани *invivo*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология и гистология, выполненная под руководством доктора биологических наук Г.Б. Большаковой и доктора биологических наук, профессора Д.В. Гольдштейна является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача современной клеточной биологии, цитологии и гистологии – изучение влияния опиоида периферического действия даларгина на репаративную регенерацию костной ткани *in vivo*.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для гистологии, фармакологии, травматологии и ортопедии, хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Васильева Андрея Вячеславовича соответствует П.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842, в части требований, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова (протокол № 6 от 22 января 2016 года.

Доктор медицинских наук (14.00.15 патологическая анатомия, 14.00.09 педиатрия),

профессор (14.00.46 клиническая лабораторная диагностика), профессор кафедры гистологии эмбриологии и цитологии л/ф ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им Н.И. Пирогова»

Минздрава России

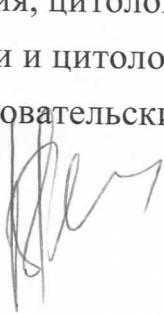
  
В.С. Сухоруков

Доктор медицинских наук (14.00.23 – гистология, цитология, эмбриология),

Заведующий кафедрой гистологии эмбриологии и цитологии л/ф

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им Н.И. Пирогова»

Минздрава России

  
В.В. Глинкина

117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

E-mail: rsmu@rsmu.ru, Тел: +7 (495) 434 03 29

Подпись профессоров Сухорукова В.С. и Глинкиной В.В. заверяю  
Учёный секретарь ГБОУ ВПО РНИМУ им Н.И. Пирогова  
Минздрава России

  
А.Г. Максина