

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.005.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ТОКСИКОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ГОЛИКОВА
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА», ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК**

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 23.09.2021

О присуждении Беляковой Наталии Александровне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Влияние морфина гидрохлорида на репродуктивную функцию самок крыс и фармакологическая коррекция выявленных нарушений» по специальностям: 14.03.04 – токсикология и 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология принята к защите 22.06.2021 (протокол заседания № 15) диссертационным советом 68.1.005.01 (Д 208.030.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева д.1, (Приказ Рособрнадзора от 10.09.2010 № 2296-576, Приказ Министерства науки и высшего образования от 03.06.2021 № 561/нк).

Соискатель – Белякова Наталия Александровна, 15.01.1976 года рождения.

В 1999 году соискатель окончила Военно-медицинский институт при Саратовском государственном медицинском университете, диплом АВС 0519361, присуждена квалификация врач по специальности «лечебное дело», работает старшим научным сотрудником в лаборатории медицинских проблем химической безопасности в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Диссертация выполнена в лаборатории токсикологии ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Научные руководители:

– доктор медицинских наук, Бонитенко Евгений Юрьевич, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, кафедра токсикологии, экстремальной и водолазной медицины, профессор кафедры;

– доктор медицинских наук, Носов Андрей Викторович, ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт прикладных проблем» (ФГУП «ГосНИИПП» ФСТЭК России), 4 отдел, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

– **Башарин Вадим Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра военной токсикологии и медицинской защиты, начальник кафедры;

– **Звартау Эдвин Эдуардович**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном **Юдиным М.А.**, доктором медицинских наук, доцентом, научно-исследовательский испытательный центр (медико-биологической защиты), начальник научно-исследовательского испытательного управления, **Фатеевым И.В.**, доктором медицинских наук, научно-исследовательский

испытательный центр (медико-биологической защиты), начальник отдела, указала, что диссертация является самостоятельным научно-квалификационным исследованием, расширяющим представление о механизмах формирования репродуктивной дисфункции в результате длительного воздействия опиатных анальгетиков и путей фармакологической коррекции выявленных нарушений.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 8 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 8 работ. В работах представлены результаты влияния морфина гидрохлорида на репродуктивную функцию самок белых крыс и пути коррекции пептидными препаратами выявленных нарушений. Авторский вклад соискателя состоял в анализе информации по рассматриваемой теме, выполнении экспериментальных исследований, статистической обработке и анализе полученных результатов. Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. **Белякова, Н.А.** Репродуктивная токсичность морфина / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов [и др.] // Российский биомедицинский журнал Medline.ru.– 2017. – Т. 18, Ст. 27. – С. 395–408.
2. **Белякова, Н.А.** Влияние нейропептидов на нарушения эстрального цикла у крыс, вызванные морфином / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов // Токсикологический вестник.– 2019. – № 5. – С. 33–38.
3. **Белякова, Н.А.** Влияние нейропептидов на репродуктивную функцию самок неинбредных крыс / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов [и др.] // Российский биомедицинский журнал Medline.ru.– 2019.– Т. 20, Ст. 1. – С. 1–16.
4. **Белякова, Н.А.** Коррекция пептидными препаратами нарушений репродуктивной функции самок крыс, вызванных длительным применением морфина / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов, К.Е. Бонитенко // Российский биомедицинский журнал Medline.ru.– 2019.– Т. 20, Ст. 9. – С. 81–93.

5. Белякова, Н.А. Развитие потомства, новые подходы к оценке в экспериментальной биологии и медицине / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов // Российский биомедицинский журнал Medline.ru.– 2020.– Т. 21, Ст. 87. – С. 1115–1133.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

- **Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации** – ведущей организации. Отзыв положительный, содержит замечания и вопросы.

В качестве замечаний отмечается:

- «... отсутствие сведений о количестве животных в отдельных таблицах: 4.1- 4.3, 4.7, что затрудняет анализ представленных данных»;

- Текст диссертации не лишен стилистических ошибок и повторов.

1. В диссертационной работе введение ПП вы осуществляли после окончания курсового введения МГХ. Будут ли они эффективны если осуществлять введение в период использования ОНА?

2. Чем было обусловлено 14-ти дневное назначение ПП и выбор доз для экспериментальных исследований?

3. В диссертационной работе показано, что курсовое введение МГХ вызывает значимые нарушения репродуктивной функции при введении самкам крысам месячного возраста. Как Вы можете объяснить механизм реализации токсического действия на репродуктивную систему крыс месячного возраста и отсутствии таковых нарушений у крыс трёхмесячного возраста?

4. Поясните механизм терапевтического действия используемых пептидных препаратов после курсового введения МГХ и какими данными вы их доказываете?

5. Известно, что ДСИП улучшает мотивационную и популяционную составляющую полового поведения у крыс-самцов, а по данным ваших

исследований снижает репродуктивную функцию у крыс самок. Каковы причины столь противоположных наблюдений?

6. Необходимо ли учитывать фазы месячного цикла у женщин при потенциальном назначении ГП, содержащих ДСИП и 4-10 АКТГ, и почему?

• **Башарина В.А.** – официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации. Отзыв положительный. Содержит вопросы:

1. Известно, что дельта-сон индуцирующий пептид и аналог фрагмента 4-10 адренотропного гормона имеют различные точки приложения фармакологического действия, что и отмечалось в проявлениях при введении здоровым самкам. Однако при использовании пептидов животным после длительного введения им морфина гидрохлорида наблюдался схожий положительный эффект на репродуктивную функцию и потомство. Каковы, по Вашему мнению, общие механизмы действия этих пептидных препаратов при длительном введении опиата?

2. Несомненно новым практическим результатом является выявленный автором в эксперименте феномен влияния пептидных препаратов на репродуктивную функцию здоровых животных. Какие дальнейшие исследования пептидов целесообразно было бы провести для уточнения ограничений использования их у человека?

3. Чем объяснить выбор признаков, используемых при расчете показателя среднего отставания/опережения сроков сенсорно-двигательного развития (Со/оССДР) или среднего отставания/опережения сроков физического развития (Со/оСФР)? Может использовалась для их отбора математическая модель? встречались ли Вы в своем исследовании при расчете этих величин со случаями когда показатели в опытной и контрольной группе носили разнонаправленный характер, т.е. один показатель в опытной

группе регистрировался в более ранние сроки, а в другой в более поздние сроки, чем в контроле? Как производить расчет в этом случае?

Существенные замечания по данной работе отсутствуют. Однако хочется пожелать автору при написании названий рисунков представлять информацию в более подробной форме с указанием срезы каких животных представлены на рисунке (контрольных, после введения морфина гидрохлорида, после лечения). В выводах 4 и 5 можно было бы более конкретно указать, что препараты вводились здоровым (или интактным) животным.

- **Звартау Э.Э.** – официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв положительный, содержит замечания и вопросы.

Замечания:

1. Работа написана хорошим языком, легко читается, но имеются небрежности и ошибки. Например: рис. 1 – «II-ый этап» вместо «II-ой этап», стр. 5 – «в частотности» вместо «в частности», стр. 10 «3-х трехмесячное введение», стр. 29 – «ДельтафЕрокс вместо Дельтафирокс», стр. 89 – табл. 3.15. «гидроуртер» вместо «гидроуретер», стр. 99 – заголовок «Влияние на сенсорно-двигательное развитие потомство в постнатальном периоде», стр. 111: «в ходе двухнедельного интранОзального введения», стр. 144 – «Для сравнения результатов, полученных при изучении влияния ПП, МГХ и их последовательного назначения самкам до беременности, на нами были рассчитаны коэффициенты...».

2. При описании результатов статистического анализа правильнее говорить не о достоверных изменениях, а о значимых изменениях. В тексте оба эти обозначения чередуются как равноправные.

3. В рисунках 1 и 2 нет ссылки на издание, в котором они были опубликованы, или отметки, что это рисунки автора.

Вопросы:

1. Автор указывает, что в течение первых 3-х дней после прекращения введения МГХ у всех животных наблюдалась выраженная «нервозность» которая постепенно уменьшалась к концу первой недели, скачкообразные перемещения, а со 2 недели – апатия. К 4 неделе поведение восстанавливалось. Можно ли оценить поведенческие изменения, связанные с хронической интоксикацией МГХ, как признаки формирования состояния опиатной зависимости? Если да, то можно ли как-то разделить эффекты, связанные с опишной интоксикацией и ее отменой? В частности, как оценить состояние животного в этом контексте при отмене морфина после трехмесячного введения на период подсадки (спаривания)?

2. Предусматривал ли дизайн раздела экспериментальной терапии нейропептидами контрольную группу, получающую растворитель в двухнедельный период после отмены морфина и до подсадки?

Вышеперечисленные вопросы и замечания не влияют на положительную оценку работы в целом.

- **Протасовой Г.А.** – кандидата медицинских наук, ведущего научного сотрудника Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека». Отзыв положительный. Содержит замечания и вопрос.

1. В разделе «Материалы и методы» не указаны источник получения экспериментальных животных (питомник), на какой день беременности (ДБ) проводилась эвтаназия беременных самок.

2. В разделе «Выводы», 4 вывод, автор утверждает, что «2 недельное введение ПП оказывало влияние на репродуктивную функцию самок...», а в разделе «Заключение» третий абзац сверху «установлено, что 2 недельное введение ПП интактным животным не оказывало существенного влияния на репродуктивную функцию самок».

3. Если 2 недельное введение ПП интактным животным оказывало влияние на репродуктивную функцию самок: снижает показатели плодовитости, изменяет характеристики плаценты, ингибирует ростовые процессы плодов, процессы формирования скелета и приводит к дефициту массы тела у потомства с отставанием в физическом и сенсорно-двигательном развитии, то за счет каких механизмов, по мнению, автора, ПП оказывает корректирующее действие на репродуктивную функцию, после воздействия МГХ?

- **Тараскина К.А.** – доктора химических наук, начальника лаборатории Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт прикладной акустики» и **Эрдниева Н.С.** – кандидата медицинских наук, начальника сектора Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт прикладной акустики». Отзыв положительный. Содержит замечание и вопрос.

Отмечается, что в тексте присутствуют единичные ошибки, автореферат излишествует представленными экспериментальными данными в табличной форме, превышен формат допустимого объема текста.

Было бы интересно узнать у автора, не проводились ли экспериментальные исследования, позволяющие судить об оптимальном периоде между приемом препаратов, содержащих ДСИП или 4-10 АКТГ, и планированием беременности у интактных пациентов с целью исключения возможных побочных эффектов?

- **Власова А.А.** – кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации и **Эрдниева Л.П.** – кандидата медицинских наук, начальника отдела Федерального государственного бюджетного учреждения «33 Центральный научно-исследовательский

испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации. Отзыв положительный. Содержит замечание.

Вместе с тем в третьем положении, выносимом на защиту, содержится противоречие четвертому и пятому выводам в части влияния использованных пептидных препаратов на репродуктивную функцию крыс-самок и развитие их детенышей, что в целом не снижает научной ценности работы.

- **Александровской Н.В.** – кандидата биологических наук, начальника отдела ФГУП «НЦ «Сигнал» и **Горбуновой Л.В.** – кандидата медицинских наук, заведующего лабораторией ФГУП «НЦ «Сигнал». Отзыв положительный. Содержит вопросы:

1. Почему оценка репродуктивной функции проводилась Вами только на самках? Представленный литературный анализ свидетельствует, что гормональный дисбаланс наблюдается как у женщин, так и у мужчин употребляющих наркотические анальгетики на постоянной основе, а также в соответствии с «Руководством по доклиническим исследованиям», влияние токсикантов на генеративную функцию рекомендовано изучать на обоих полах? По Вашему мнению, будут ли предлагаемые Вами пептидные препараты также эффективны на самцах, предварительно получавших наркотические анальгетики?

2. Хотелось бы уточнить – назовите основные положения разработанной Вами экспериментальной модели по оценке патологии репродуктивной системы самок, вызванной длительным применением опиатных анальгетиков. Возможно ли использовать разработанную модель для оценки нарушения репродуктивной функции самцов?

3. В «Научной новизне» Вы утверждаете «впервые установлено, что ГПП, содержащие ДСИП или 4-10 АКТГ, оказывают влияние на РФ самок крыс: снижают показатели плодовитости, изменяют характеристики плаценты, оказывают влияние на внутриутробное развитие плода и процессы формирования скелета....» абз. 3 стр. 4. Далее, абз. 5 стр. 5 – «впервые

показано, что ПП содержащие ДСИП или 4-10 АКТГ, вводимые после длительного предшествовавшего применения МГХ в 10,0 ЭТД, нивелируют нарушения РФ у самок...» – т.е. при монотерапии ПП наблюдается негативный эффект на репродуктивную функцию крыс самок, в то время как применение ПП на фоне длительного приёма опиатных анальгетиков оказывают благоприятное действие, как Вы объясните данный факт? На каком этапе этиопатогенетической терапии Вы рекомендуете вводить ПП – до наступления беременности или во время беременности, и каким образом будет проводиться оценка эффективности назначенной терапии?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем их компетентности, известными научными исследованиями, публикационной активностью по специальностям «Токсикология», «Фармакология, клиническая фармакология», наличием в ведущей организации ученых, известных своими исследованиями по теме защищаемой диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана модель формирования нарушений репродуктивной системы у самок крыс, вызванных длительным введением морфина гидрохлорида;

предложен нетрадиционный подход к комплексной оценке показателей физического и сенсорно-моторного развития, заключающийся в количественном анализе степени соответствия физического развития сенсорно-моторному у потомства мелких лабораторных животных в постнатальном периоде после действия химических веществ;

доказаны ранее неизвестная зависимость выраженности нарушений репродуктивной функции у самок крыс от их возраста при начале длительного приема морфина гидрохлорида и перспективность использования пептидных препаратов, содержащие ДСИП и 4-10АКТГ в качестве средств этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции;

введены новые индексы и коэффициенты, позволяющие количественно оценивать степень физического и сенсорно-двигательного развития потомства.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказана** способность пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4-10АКТГ, устранять нарушения репродуктивной функции у самок крыс, вызванные длительным применением морфина гидрохлорида, и восстанавливать темпы постнатального развития их потомства;
- применительно к проблематике диссертационного исследования результативно использован** комплекс современных методик изучения репродуктивной функции самок крыс, дополненный новыми способами оценки полноценности сенсорно-двигательного и физического развития их потомства;
- изложены** аргументы, подтверждающие нейроэндокринные механизмы нарушений репродуктивной функции у самок крыс, в результате длительного применения морфина гидрохлорида;
- раскрыты** пути исследования механизмов нарушений нейро-эндокринной регуляции репродуктивной функции материнских особей при хроническом действии морфина гидрохлорида и принципы их коррекции пептидными препаратами;
- изучены** причинно-следственные связи между временем начала применения морфина гидрохлорида и степенью выраженности нарушений репродуктивной функции у материнских особей;
- проведена модернизация** существующего методического подхода к оценке физического и сенсорно-двигательного развития потомства при изучении нарушений репродуктивной функции.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены методические рекомендации «Оценка морфофункциональных нарушений у потомства как результата воздействия экотоксикантов на организмы родительских особей» (МР ФМБА России 21.45-17), которые используются в научной и практической деятельности ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России, а также в ФГУП «ГосНИИПП» ФСТЭК России (Акт о реализации результатов диссертационной работы Беляковой Н.А. от 29.03.2021);

определена перспективность дальнейшего изучения пептидных препаратов, содержащих ДСИП либо 4-10АКТГ для использования их как средств фармакотерапии нарушений репродуктивной функции у женщин после длительного применения морфина гидрохлорида;

создана экспериментальная модель оценки влияния лекарственных препаратов на репродуктивную функцию, физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства крыс на примере длительного введения морфина гидрохлорида;

представлены предложения по проведению исследований по оценке эффективности пептидных препаратов, содержащих ДСИП или 4-10АКТГ.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты исследования получены на сертифицированном оборудовании, на достаточном количестве экспериментальных животных (386 самок крыс и 1534 особей их потомства), при использовании современных высокоинформативных методов (токсикологических, морфологических, биохимических, физиологических);

теория построена на современных знаниях о механизмах нарушений репродуктивной функции у самок крыс, вызванных длительным применением опиатов и опиоидов, представленных в отечественных и зарубежных публикациях;

идея выполненного исследования базируется на анализе научной литературы о механизмах действия нейропептидных препаратов на нейро-эндокринную регуляцию репродуктивной функции;

использованы современные методики по оценке репродуктивной функции материнских особей, а также физического и сенсорно-двигательного развития их потомства;

установлено качественное совпадение отдельных результатов исследования с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы высокоинформативные методики анализа с применением методов параметрической и непараметрической статистики обработки экспериментальных данных.

Личный вклад автора состоит в анализе научной информации по рассматриваемой теме, определении цели и задач исследования, разработке схемы проведения экспериментов, выполнении экспериментальных исследований, статистической обработке и анализе результатов исследования, формулировке выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке и оформлении публикаций.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

- профессором Саватеевой-Любимовой Т.Н. о недостаточном раскрытии механизмов нарушения репродуктивной функции у самок крыс разного возраста в результате действия морфина гидрохлорида;
- профессором Оковитым С.В. о недостаточной апробации математической модели оценки физического и сенсорно-моторного развития потомства.

Соискатель Белякова Н.А. согласилась с высказанными замечаниями, ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию, касающуюся основного механизма нарушений репродуктивной функции после длительного введения морфина гидрохлорида в результате гормонального гипоталамо-гипофизарного дисбаланса, а также целесообразности дальнейшей апробации разработанной

модели в экспериментальных токсикологических и фармакологических исследованиях.

На заседании 23.09.2021 диссертационный совет принял решение - за решение научной задачи по выявлению нарушений репродуктивной функции и обоснованию путей их фармакологической коррекции после длительного введения морфина гидрохлорида самкам крыс, имеющей значение для развития токсикологии и фармакологии, клинической фармакологии, присудить Беляковой Наталии Александровне учёную степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 5 докторов наук по специальности 14.03.04 – токсикология (медицинские науки) и 3 доктора наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за 22, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета



Баринов Владимир Александрович

Ученый секретарь
диссертационного совета



Луковникова Любовь Владимировна

23.09.2021