

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Ишуниной Татьяны Александровны на диссертационную работу Макарьевой Любови Михайловны «Изменения нейроглиальной организации сенсомоторной коры белых крыс при перевязке общих сонных артерий» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22 - Клеточная биология

Актуальность темы исследования

Снижение артериального кровотока является основной причиной ишемического инсульта, приводящего к гибели нейронов и когнитивным нарушениям. Ежегодно инсульт поражает до полумиллиона человек и занимает второе место в структуре смертности и первое место среди причин инвалидности населения. Несмотря на стремительное развитие медицины и фармакологии, летальность в остром периоде ишемических инсультов составляет около 35%, а через год возрастает до 47-50%. Одна треть больных – люди трудоспособного возраста. При этом к полноценному труду возвращается лишь 10-20%. Инсульт молодеет и нередко встречается у людей в возрасте 30-40 лет. Каждые 10 лет риск возникновения инсульта увеличивается в 2 раза. Данные эпидемиологических исследований диктуют необходимость тщательного изучения факторов риска и патогенетических механизмов ишемических изменений в головном мозге, позволяющих разработать новые методы лечения и реабилитации больных после инсульта, включая нейропротекторные аспекты терапии. В связи с этим актуальность и практическое значение диссертационного исследования Макарьевой Любови Михайловны, посвященного изучению закономерностей морфофункциональных изменений сенсомоторной коры (СМК) при моделировании неполной глобальной ишемии посредством перевязки общих сонных артерий (ПОСА) и направленного на выявление закономерностей структурно-функциональной реорганизации нейронов, глиальных клеток и структур межнейронной коммуникации, не вызывают никаких сомнений.

Научная новизна

Автором впервые проведено комплексное гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое изучение серийных срезов сенсомоторной коры головного мозга белых крыс. Наглядно продемонстрированы нейроны с различными патоморфологическими изменениями, которые могут быть использованы в качестве великолепного иллюстративного материала для учебных пособий.

Установлены закономерности реорганизации цитоархитектоники, межнейронных и нейроглиальных взаимоотношений в сенсомоторной коре головного мозга белых крыс при ишемических повреждениях. Получены новые

данные, существенно расширяющие представления о пост-ишемических изменениях в головном мозге. Особый интерес вызывает специфическая динамика гиперхромных несморщенных и гипохромных нейронов. В первые дни после ПОСА резко возрастает число гиперхромных нейронов. Затем их доля постепенно снижается на фоне роста гипохромных нейронов. Автор полагает, что это связано с переходом гиперхромных несморщенных нейронов «из состояния активного функционирования в состояние относительного покоя для накопления энергии с целью регенерации в условиях ишемии». Установлен гетерохронный и гетероморфный характер изменений в разных слоях соматомоторной коры. Максимальное проявление деструктивных изменений отмечено в III-м citoархитектоническом слое.

Значимость для науки и практики

Представленная работа имеет бесспорную научную и практическую значимость. Полученные данные о морфофункциональных изменениях в сенсомоторной коре при моделировании неполной глобальной ишемии представляют несомненный научный интерес и могут быть использованы в нейрогистологии, фармакологии, нейрофизиологии, неврологии, в том числе для разработки новых нейропротекторных методов лечения инсульта в остром периоде.

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

Представленные положения и выводы диссертационной работы грамотно обоснованы использованием современного комплексного методологического подхода, корректным и достаточно строгим статистическим анализом. Автор демонстрирует совершенное владение рутинными гистологическими, иммуногистохимическими, электронномикроскопическими и морфометрическими методами исследования. Полученные данные проиллюстрированы микрофотографиями и графиками высокого качества, детально рассмотрены в контексте современной научной литературы по теме исследования. Результаты диссертационной работы неоднократно докладывались и обсуждались на научных конференциях. Имеется свидетельство о государственной регистрации базы данных.

Объем и структура диссертации

Диссертация написана в грамотном, научном стиле. Следует отметить логичность и чёткость изложения материала. Диссертация имеет классическую структуру, состоит из введения, литературного обзора, описания методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 164 страницах машинописного текста, содержит 55 рисунков, включающих высококачественные микрофотографии и графики.

Во **введении обоснована** актуальность исследования, сформулированы цель и основные задачи работы, степень новизны полученных результатов и их апробация, отражен личный вклад автора.

В **первой главе** описаны особенности анатомо-гистологической организации сенсомоторной коры крыс и её кровоснабжения, рассмотрены особенности необратимой двусторонней перевязки общих сонных артерий в качестве экспериментальной модели гипоперфузии головного мозга у крыс и суммированы имеющиеся в литературе сведения о компенсаторно-восстановительных реакциях нервной ткани в условиях экспериментальной ишемии.

Во **второй главе** представлен тщательно продуманный дизайн исследования, подробно описана экспериментальная процедура, включая оценку неврологического статуса животных. Гистологическое исследование сенсомоторной коры проведено с использованием рутинных и иммуногистохимических методик на высоком уровне, что является неоспоримым достоинством работы. Электронная микроскопия органично вписывается в дизайн исследования и предоставляет важные научные сведения, дополняющие и детализирующие результаты иммуногистохимии и традиционных методов окраски по Нисслю и гематоксилином и эозином. Использование научно обоснованных методов иммуногистохимии позволило дифференцировать астроциты и микроглиальные клетки, оценить изменения метаболической и синаптической активности нейронов. К важным преимуществам работы следует отнести тщательно проведенный морфометрический анализ и корректную статистическую обработку полученных результатов.

В **третьей главе** приведено описание и подробная иллюстрация полученных результатов. Рассмотрены основные патологические изменения нейронов и глиальных клеток в условиях ишемии, определены особенности динамики плотности этих клеток на разных сроках эксперимента. Проведена количественная оценка результатов иммуногистохимических исследований. Установлено, что в остром периоде (через 1 и 3 сут после ПОСА) ишемии наблюдаются деструктивные изменения нейронов, проявляющиеся гиперхромией цитоплазмы и ядра, сморщиванием перикарионов и тигролизом; уменьшение плотности синаптических терминалей; активация и увеличение численности микроглиальных клеток; гиперплазия и гипертрофии отростков астроцитов с увеличением экспрессии GFAP; перичеселлюлярный отек нейронов как следствие активизации дренажно-детоксикационной системы. В отдаленном периоде (через 14 и 30 сут после ПОСА) автором отмечены проявления компенсаторно-восстановительных реакций в виде умеренного астроглиоза и увеличения площади p38-позитивных терминалей.

В **четвёртой главе** полученные результаты проанализированы и рассмотрены в контексте данных современной научной литературы.

Выводы отражают суть диссертационной работы, логично вытекают из полученных автором фактических данных и соответствуют поставленным целям и задачам.

Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. Публикации автора достаточно полно отражают сущность диссертационного исследования.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе и форме её изложения нет. Работа очень интересная. При прочтении возникло несколько **вопросов:**

1) Согласно эпидемиологическим данным смертность от ишемических инсультов у женщин в 2 раза выше, чем у мужчин. В связи с этим, обратили ли Вы внимание на гендерные различия в своей экспериментальной работе?

2) Как часто в норме у контрольных животных встречаются гиперхромные нейроны, клетки-тени и другие патоморфологические типы нейронов, подробно описанные в Вашем исследовании?

3) На стр. 76 Вы говорите о некоей «помощи» нейронам от глиальных клеток уже через день после ПОСА. Но ведь согласно Вашим данным в этот период в СМК имеется явный дефицит астроцитов и олигодендроцитов. Превалируют микроглиальные клетки. Уточните, пожалуйста, от каких глиальных клеток и какую «помощь» Вы имели в виду.

4) По сравнению с контролем экспрессия нейрон-специфичной енолазы повышена на всех сроках эксперимента. Это показатель активности выживших и/или минимально повреждённых нейронов, стремящихся компенсировать гибель части нейроцитов? Если да, то какова доля этих нейронов, их функция, каков механизм их выживания, что входит в микроокружение этих нейронов?

5) На фоне снижения числа астроцитов в первые дни после ПОСА Вы используете термин «набухание астроцитов» и говорите об увеличении экспрессии GFAP, свидетельствующей об их активации. Так что же всё-таки происходит с астроцитами в этот период: активация выживших клеток или их набухание вследствие общих гемодинамических изменений?

6) В главе, посвящённой описанию материала и методов, указано «На препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, выявляли ишемические изменения нейронов в виде резко выраженной эозинофилии их цитоплазмы». Почему у ишемизированных нейронов цитоплазма становится эозинофильной?

7) На основании Ваших данных можно ли говорить о какой-либо степени восстановления СМК на 30-сутки эксперимента?

Указанные вопросы и замечания не снижают значимости полученных

результатов, не ставят под сомнение обоснованность основных положений и выводов и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Макарьевой Любови Михайловны «Изменения нейроглиальной организации сенсомоторной коры белых крыс при перевязке общих сонных артерий» является самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне, в которой содержится решение актуальной задачи – комплексной оценке нейрогистологических изменений, особенностей цитоархитектонической реорганизации и реакции глиальных клеток соматосенсорной коры крыс в условиях экспериментальной ишемии. Диссертация соответствует требованиям п.9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013г. (в редакции Постановления Правительства РФ от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.22 Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук по специальности «03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология», доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Курский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

«13» января 2023 г.

Ишунина Татьяна Александровна

Почтовый адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Телефон: 8 (4712) 58-13-72.

Сайт организации: <https://kurskmed.com>

E-mail: kurskmed@mail.ru.

E-mail оппонента: IshuninaTA@kursksmu.net

Подпись д.м.н., профессора
кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии
Т.А. Ишуниной заверяю

Начальник управления персоналом и
кадровой работы

Сорокина Наталья Николаевна

«13» января 2023 г.

