

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Колдышевой Елены Владимировны на диссертацию Макарьевой Любови Михайловны «Изменения нейроглиальной организации сенсомоторной коры белых крыс при перерыве общих сонных артерий», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология (медицинские науки)

Актуальность избранной темы Ишемическое повреждение головного мозга остается ведущим среди цереброваскулярной патологии. Это тяжелое нейродегенеративное состояние затрудняет или полностью подавляет возможности реализации когнитивных и моторных функций нервной системы. К важным звеньям реализации ишемии головного мозга относят недостаток оксигенации нейронов, смену пути утилизации глюкозы с аэробного на анаэробный, снижение энергообразования, возникновение окислительного стресса и еще ряд факторов. Среди этих факторов не всегда просто выбрать триггерные точки, воздействие на которые будет способствовать скорейшему и наиболее полному восстановлению утраченных функций. В большинстве случаев исследование путей и механизмов этого процесса может быть осуществлено только в эксперименте на животных. Не нужно никого убеждать, что для получения действительно качественных жизнеспособных и востребованных данных основную роль играет подбор адекватной модели и применение наиболее современных средств выявления и анализа происходящих процессов. К таким средствам в последнее время относят иммуногистохимические маркеры, существенно расширяющие понимание процессов, происходящих на различных уровнях организации, особенно на молекулярно-клеточном, тканевом и органном. Позволяющие не только уточнить пути структурной реорганизации при действии различных факторов, но и выйти на механизмы, связанные с коррекцией возникающих состояний.

Особое значение эти методы исследования приобретают в свете тезиса о том, что структура и форма нейрона способна определять его функцию, диктуя формирование синапсов и устанавливая его синаптические партнерства. Геометрия нейронов нередко зависит от типа клеток и истории полученных стимулов, а морфология аксонального дерева, в целом, играет важную роль в модуляции активности и кодировании информации.

Ишемическое повреждение головного мозга, как и некоторые другие патогенные факторы, инициирует реорганизацию корковых центров и проводящих путей за пределами «ядерной зоны» острой или хронической ишемии, что ограничивает возможность восстановления функций. Соответственно понимание закономерностей и тонких механизмов постишемического нейропластического ремоделирования имеет существенное значение для разработки стратегий реабилитации после такого рода повреждений.

Еще большую актуальность проблеме придает то, что ишемия головного мозга является непосредственной причиной постреанимационной энцефалопатии, являющейся распространенным явлением при временной остановке или снижении перфузии головного мозга. Степень выраженности клинических проявлений данной патологии может варьировать от полного их отсутствия, до развернутой картины повреждения нервной ткани.

В данном исследовании рассматриваются и анализируются процессы реорганизации нервной ткани сенсомоторной коры головного мозга в ответ на ишемическое воздействие, вызванное необратимой двусторонней перевязкой общих сонных артерий. Этот метод можно, скорее всего, отнести к модели тотальной или субтотальной ишемии, что соответствует аноксическому повреждению головного мозга при остановке сердца, и этот факт, конечно же, следует учитывать при дальнейшей трактовке полученных результатов.

Таким образом, считаю, что диссертационное исследование Л.М.Макарьевой «Изменения нейроглиальной организации сенсомоторной коры белых крыс при перевязке общих сонных артерий», посвященное изучению реакции нервной ткани на ишемическое повреждение, является актуальным, современным и востребованным. Полученные данные могут быть ценным приобретением, как в фундаментальном, так и прикладном аспектах и приблизить к пониманию механизма возникновения нейродегенеративных изменений и разработке способов их профилактики и лечения.

Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Обоснованность, представленных в работе положений обусловлена, прежде всего, корректной постановкой цели и задач с учетом актуальности темы исследования, а также грамотным подбором современных методов исследования и адекватной статистической обработкой полученных данных.

В эксперименте по воспроизведению неполной глобальной ишемии головного мозга путем необратимой двусторонней перевязки общих сонных артерий использовано 36 белых крыс-самцов линии Wistar, что является достаточным для получения объективных данных. В работе автором использована световая микроскопия (окрашивание гематоксилином и эозином, тионин по методу Ниссля). Выполнено иммуногистохимическое исследование с использованием поли- и моноклональных антител, позволившее дифференцировать нейроны (NSE), астроциты (GFAP), микроглиоциты (IBA1). Хочется обратить особое внимание именно на этот метод исследования, ставший практически рутинным, в онкоморфологии он оказывается недооцененным и недоиспользуемым в нейроморфологии. Выполнено адекватное морфометрическое исследование (с использованием программа ImageJ 1.53). Для оценки астроцитарных сетей был проведен фрактальный анализ сенсомоторной коры головного мозга. Статистический анализ осуществлен при помощи непараметрических методов с использованием программы Statistica 8.0 и возможности программы Microsoft Excel.

Таким образом, сочетание грамотно поставленных задач и использования современных методов исследования с адекватной статистической обработкой обуславливают обоснованность и достоверность полученных результатов. Сформулированные автором выводы и основные положения диссертации соответствуют поставленным цели и задачам и логично вытекают из них, а результаты исследования не вызывают принципиальных возражений.

Научная новизна: Автором впервые проведено комплексное гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование сенсомоторной коры головного мозга крыс линии Wistar, в результате чего получены новые данные об особенностях реорганизации цитоархитектоники, межнейронных и нейроглиальных взаимоотношений в сенсомоторной коре головного мозга модельных объектов.

Впервые получены данные о динамике прижизненных дегенеративных изменений нейронов СМК. Показано, что образование дегенеративно измененных нейронов и снижение общей численной плотности нейронов происходит на протяжении всего исследуемого периода с сохранением высокой численной плотности необратимо поврежденных нейронов через 30 сут после перевязки общих сонных артерий, что позволило автору предположить существования вторичных повреждающих факторов.

Автором впервые установлен гетерохронный и гетероморфный характер реорганизации нейроглиальных и межнейрональных взаимоотношений в разных слоях сенсомоторной коры головного мозга. В работе впервые с помощью иммуногистохимических и морфометрических методов установлено наличие статистически значимых корреляционных связей между площадью р38-позитивного материала и выраженностью отека-набухания нейропиля.

Теоретическая и практическая значимость Результаты проведенного исследования дополняют современные представления о морфологии головного мозга в условиях его хронической гипоперфузии. Получены данные о динамике прижизненных дегенеративных изменений нейронов и глиальных клеток, дана оценка нейроглиальным взаимоотношениям на протяжении продолжительного ишемического воздействия (30 сут).

Полученные результаты будут полезны для экспериментальной гистологии, фармакологии, нейрофизиологии и неврологии, могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах гистологии.

Объем и структура диссертации. Диссертация построена по классическому типу и представлена на 143-х страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы материала и методов исследования, а также главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 1 таблицей и 55 рисунками и микрофотографиями хорошего качества

Во *введении* обосновывается актуальность и степень разработанности темы диссертации. Формулируется цель и необходимые для ее достижения задачи. Излагается научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования. Обозначается степень достоверности и личный вклад автора. Приводятся данные о внедрении результатов исследования и публикациях по теме диссертации.

В *первой главе* (обзор литературы) диссертантом показано знание современной литературы по исследуемой проблеме и умение ею пользоваться. Подробно освещаются анатомо-гистологические особенности сенсомоторной коры головного мозга, уделяется внимание особенностям кровоснабжения мозга крыс. Обосновывается выбор экспериментальной модели. Приводятся данные о компенсаторно-приспособительных особенностях и структурной реорганизации сенсомоторной коры. Анализируется роль отдельных клеточ-

ных популяций в восстановлении и реализации функции в постишемический период. Автор указывает на области недостаточно изученные, по его мнению, на данный момент. Список литературы содержит 241 источник, из которых 80 отечественных и 161 зарубежных авторов.

Во *второй главе* (материал и методы исследования) Автор в удобной таблично-схематической форме представляет дизайн исследования. Подробно описывает объект и экспериментальную модель. Ценна, на мой взгляд, проведенная автором динамическая оценка состояния животных (в баллах) на протяжении всего эксперимента. Детально описаны манипуляции, проводимые для получения гистологических срезов и иммуногистохимических препаратов, что позволяет исключить вероятность неточностей как в получении данных, так и в их интерпретации. Гистологическое исследование выглядит очень цельным. Использование рутинных методов окрашивания с помощью гематоксилина и эозина и по Нисслю, логично продолжаются иммуногистохимическим анализом, позволяющим дифференцировать на срезах астроциты, микроглиоциты, нейроны и синаптические терминалии, что позволило провести оценку их морфофункционального состояния, метаболической и синаптической активности. Завершается гистологический блок электронно-микроскопическим исследованием. Следующим блоком является морфометрическое исследование, где автор проводит анализ процентного содержания нормо-, гипо-, и гиперхромных нейронов. Фрактальный анализ астроцитарных сетей позволил автору оценить не только площадь и форму астроцитов, но и провести оценку формы и распределения в пространстве отростков. В завершении стоит отметить подробное описание качественной статистической обработки полученных данных.

Третья глава (результаты собственных исследований) содержит описание полученных результатов и состоит из четырех основных разделов. Первый раздел посвящен описанию цитоархитектоники сенсомоторной коры мозга крыс после необратимой двусторонней перевязки общих сонных артерий. Дана оценка состояния нейронов и глиальных клеток и их патологических изменений. Автор отмечает что, несмотря на необратимые дегенеративные изменения, уже в самом раннем периоде наблюдаются явления компенсаторной реорганизации. Следующий раздел посвящен количественным изменениям нейронов и глиальных клеток, проведено динамическое исследование нейроглиального индекса на протяжении всего исследуемого периода (до 30 сут), что сопровождается хорошо читаемыми графиками. На основа-

нии проведенного иммуногистохимического исследования представлены характеристика глиальных клеток, проведена их количественная оценка. Благодаря применению ИГХ-метода автор оценивает морфофункциональные изменения нейронов и структур межнейронной коммуникации в исследуемых условиях. Полученные данные проиллюстрированы микрофотографиями высокого качества, хорошо читаемыми графиками.

Четвертая глава (обсуждение полученных результатов) материалы проведенного исследования подробно обсуждены с привлечением достаточного количества современных литературных источников.

Результаты исследования широко апробированы на научных конференциях и конгрессах международного уровня. По теме диссертационной работы опубликовано 19 печатных работ, 12 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, из них в базе данных Scopus – 1.

Работа соответствует специальности 1.5.22 – Клеточная биология (медицинские науки).

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению работы не имеется.

Заключение Кандидатская диссертация Макарьевой Любови Михайловны на тему «Изменения нейроглиальной организации сенсомоторной коры белых крыс при перевязке общих сонных артерий», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Акулина Виктора Александровича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – изучены особенности структурно-функциональной реорганизации сенсомоторной коры головного мозга белых крыс после перевязки общих сонных артерий. Исследование имеет существенное значение для патологической анатомии и клеточной биологии, как в фундаментальном, так и в прикладном аспектах.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов работы в рецензируемых научных изданиях научно-квалификационная работа Макарьевой Любови Михайловны соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 с изменениями от 28.08.2017 № 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автору Макарьевой

Колдышева Елена Владимировна, доктор биологических наук (специальность 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология), главный научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов Института молекулярной патологии и патоморфологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

E-mail: director@frcftm.ru



Колдышева Елена Владимировна



Кандишвили Е.В.
Мелекис О.И.
2023.