

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»

(ФГБНУ НИИМЧ)

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

Тел/факс 8 (499) 120-80-65 – директор; 8 (499) 120-43-03 – зам. директора по научной работе
8 (499) 120-95-86 – зам. директора по общим вопросам; 8 (499) 120-94-79 – зам. директора по экономическим и
правовым вопросам; 8 (499) 120-44-08 – бухгалтерия;

e-mail: morfolhum@mail.ru; www.morfolhum.ru

Р/сч.40501810600002000079 БИК 044583001 в УФК по г. Москве; Отделение I Москва г. Москва 705
Л/сч. 20736Ц36910; 21736Ц36910 ИНН 7727038641/772701001

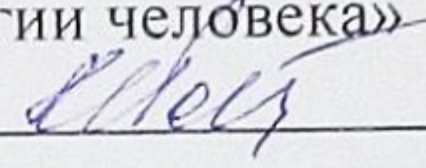
Исх. № 02/212

« 15 » ноября 2017г.



УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора по научной
работе ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт
морфологии человека»


д.б.н., профессор Болтовская М. Н.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» на диссертационную работу Эковой Марии Рафаэлевны на тему «Морфофункциональные изменения гиппокампа при моделировании комбинированного стресса», представленную к защите в диссертационный совет Д 208.008.01 при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.02 – патологическая анатомия, 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Представленная диссертационная работа посвящена одной из актуальных задач современной нейроморфологии – изучению в эксперименте морфофункциональных изменений гиппокампа в физиологических условиях и на фоне комбинированного стрессорного воздействия.

Гиппокамп играет ключевую роль в процессах обучения, памяти, эмоциональной окраски восприятия окружающей действительности.

Стрессовое воздействие и старение являются факторами риска в развитии нейродегенеративной патологии, приводящей к когнитивным расстройствам и снижению качества жизни пожилых людей. Несмотря на то, что в настоящее время морфофункциональные особенности дорсального и вентрального гиппокампа, определяемые по септотемпоральной оси в норме, детально охарактеризованы, функциональные различия и структурные изменения этих отделов гиппокампа при стрессорном воздействии в зрелом и старческом возрастных периодах изучены недостаточно.

В стресс-моделях, в основном, используются препубертатные и половозрелые животные, а морфологические изменения нейронов различных цитоархитектонических областей и пространственной иммунофенотипической гетерогенности гиппокампа в процессе старения и при стрессорных воздействиях не изучены. Решению этих актуальных задач и посвящена работа М. Р. Эковой.

Научная и практическая ценность диссертации

В проведенном диссертационном исследовании представлены приоритетные научные результаты, имеющие важное фундаментальное и прикладное значение.

На основании анализа полученных морфологических данных о реализации процессов клеточной гибели и адаптации, включая различные механизмы нейропластичности, сформулирована научно-теоретическая концепция о цитоархитектонической и иммунофенотипической регион-специфической гетерогенности гиппокампа у крыс зрелого и старческого возрастов в норме и под влиянием комбинированного стресса.

Впервые на основании комплексного морфологического исследования, включающего оценку иммунофенотипа нейронов и глии с применением программной компьютерной морфометрии, дана детальная характеристика морфофункциональных изменений дорсального и вентрального отделов гиппокампа у крыс зрелого и старческого возрастов. Показано, что у старых

крыс возрастает каспаза-3-зависимая гибель нейронов, более выраженная в дорсальном отделе гиппокампа.

В вентральном отделе гиппокампа выявлено наиболее выраженное возрастзависимое снижение экспрессии сериновой рацемазы, сопровождающееся перераспределением иммунореактивного материала в перикарионы нейронов пирамидного слоя из их дендритов, расположенных в радиальном слое.

Исследование NOS-зависимых механизмов с участием iNOS, eNOS, nNOS у крыс зрелого и старческого возрастов позволило установить различия в уровне их экспрессии в нейронах, нейропиле, а также в эндотелии капилляров дорсального и вентрального отделов гиппокампа. Нейропротективные механизмы в дорсальном отделе гиппокампа при стрессе у животных в возрасте 24-х месяцев характеризуются появлением экспрессии BDNF в нейронах и её увеличением в астроцитах, что сочетается с усилением аутофагии в вентральном отделе гиппокампа и увеличением экспрессии beclin-1 в нейронах пирамидного слоя. Эти изменения сопровождаются регрессивными изменениями астроглии с уменьшением уровня экспрессии кислого глиального фибриллярного белка.

Впервые на модели комбинированного стресса у крыс в возрасте 12-ти месяцев обнаружено, что наиболее выраженные повреждения наблюдаются в нейронах пирамидного слоя CA3 дорсального отдела гиппокампа и в CA1 вентрального отдела, что сопровождается повышением количества нейронов с признаками апоптоза в дорсальном отделе гиппокампа. В возрасте 24-х месяцев у крыс после стрессорного воздействия отмечаются менее выраженные признаки повреждения в сочетании с менее выраженной активацией аутофагии по оценке экспрессии beclin-1.

При сравнительном анализе морфофункциональных изменений гиппокампа под влиянием стрессорного воздействия выявлено наиболее выраженное снижение уровня экспрессии сериновой рацемазы в вентральном отделе гиппокампа у крыс в возрасте 12-ти месяцев и увеличение – у 24-х

месячных животных, что сочетается с прогрессирующим снижением нейрональной пластичности и угнетением BDNF-опосредованных нейропротективных механизмов.

Впервые при воздействии комбинированного стресса в гиппокампе выявлено увеличение экспрессии iNOS, наиболее выраженное у 12-ти месячных животных в вентральном отделе гиппокампа, а также снижение экспрессии у 24-х месячных животных в вентральном отделе на фоне увеличения iNOS в дорсальном отделе, что сочетается с выраженным уменьшением экспрессии eNOS в эндотелии капилляров, нейропиле радиального слоя дорсального отдела гиппокампа в обеих возрастных группах при увеличении удельного количества eNOS-иммунопозитивных нейронов у 24-х месячных крыс в пирамидном слое.

Связь темы с планами соответствующих отраслей науки

Работа М. Р. Эковой выполнена в соответствии с темой научной работы кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: «Морфофункциональные аспекты процессов адаптации, повреждения, регенерации, нарушений обмена веществ при инфекционных заболеваниях, болезнях системы кровообращения, заболеваниях нервной, эндокринной и других систем» и имеет регистрационный номер НИОКТР: АААА-А17-117022850040-4.

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

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнения. Используемые в работе методические подходы адекватны поставленным цели и задачам исследования. Автором применен комплекс как классических, так и современных гистологических и морфометрических методов, при этом методы дополняют друг друга. Работу

отличает большой набор используемых иммуногистохимических маркеров, что позволило детально охарактеризовать морфофункциональное состояние основных клеточных популяций гиппокампа у животных разных возрастных групп в норме и после стрессорного воздействия. С помощью морфометрических методов на гистологических препаратах, окрашенных по методу Ниссля и маркированных различными антителами, проведена количественная и полуколичественная оценка функциональных типов нейронов и глиальных клеток. В работе использованы нелинейные белые крысы, в каждой экспериментальной группе число животных достаточно с точки зрения как биоэтики, так и получения достоверных результатов. С учетом variability полученных показателей автором обоснованно использованы непараметрические статистические методы. Наличие различий между выборками проведено с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни, с учетом множественного сравнения оправдано применение поправки Бонферрони для коррекции статистического уровня значимости. Все это позволяет считать полученные автором результаты достоверными.

Структура диссертации традиционна. Работа написана хорошим литературным языком, иллюстрирована достаточным количеством микрофотографий, графиков и таблиц.

Сформулированные автором выводы достоверны, полностью соответствуют задачам и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования. Автореферат и публикации полностью отражают основные положения диссертации.

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них - 6 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Результаты исследования доложены на 11 всероссийских и международных конференциях.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов

Теоретическая значимость данного исследования заключается в его фундаментальности, так как полученные в работе результаты расширяют представления о регион-специфической гетерогенности гиппокампа и морфофункциональных изменениях его дорсального и вентрального отделов в зрелом и старческом возрастных периодах в норме и при стрессорном воздействии. Результаты данного исследования имеют важное значение для патологической анатомии, клеточной биологии, цитологии, гистологии, нейроморфологии и геронтологии.

Рецензируемая работа имеет и практическую значимость, так как выявленные в эксперименте морфофункциональные изменения различных отделов гиппокампа в старческом возрастном периоде при стрессе открывают перспективы для новых подходов к применению существующих и разработке новых фармакологических препаратов направленного действия.

Результаты работы использованы в педагогическом процессе на кафедрах патологической анатомии, гистологии, эмбриологии, цитологии и кафедре биологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, внедрены в научную работу ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, практическую работу ГБУЗ «Волгоградское областное патологоанатомическое бюро», НУЗ «Отделенческая клиническая больница на ст. Волгоград-1 ОАО «РЖД».

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные автором результаты иммуногистохимического исследования, а также сформулированные на основе их анализа выводы могут быть применены для оценки функционального состояния пирамидных нейронов гиппокампа и использованы в дальнейших научных исследованиях при

моделировании возрастзависимой патологии ЦНС. Выявленные качественные и количественные характеристики структурных изменений дорсального и вентрального отделов гиппокампа при мягком стрессорном воздействии могут быть использованы в патологической анатомии для поиска морфофункциональных критериев диагностики стресс-индуцированной патологии, когнитивных нарушений и депрессивных состояний.

Полученные данные можно использовать в учебном процессе для преподавания патологической анатомии, гистологии, цитологии в высших медицинских учебных заведениях, а также в программах циклов повышения квалификации и тематических семинарах.

Замечания к работе

Выводы в полном объеме отражают результаты исследования, но они перегружены цифровыми показателями и включают статистическую значимость их различий, что затрудняет восприятие. Часть микрофотографий, на которых представлены результаты иммуногистохимического исследования (рис. 68, 71) невысокого качества вследствие выраженного фонового окрашивания. Однако эти замечания не носят принципиального характера и не влияют на высокую оценку рецензируемой работы.

Заключение

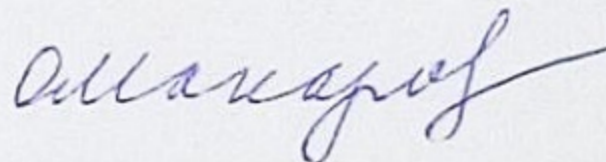
Диссертационная работа М. Р. Эковой «Морфофункциональные изменения гиппокампа при моделировании комбинированного стресса», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.02 - патологическая анатомия, 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, является научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научной задачи – выявление закономерностей морфофункциональных изменений гиппокампа при старении и моделировании комбинированного стресса.

Результаты работы имеют большое значение как для патологической анатомии, так и для клеточной биологии, цитологии, гистологии и геронтологии.

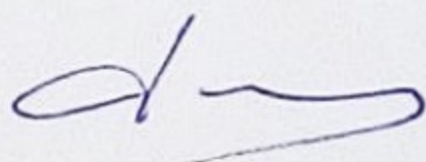
По актуальности, новизне, уровню выполнения, научно-практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым ВАК Министерства образования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель Экова Мария Рафаэлевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.02 – патологическая анатомия, 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв на диссертацию Эковой Марии Рафаэлевны обсужден и утвержден на заседании межлабораторной конференции лабораторий развития нервной системы, нейроморфологии и иммуноморфологии воспаления ФГБНУ НИИМЧ (протокол № 10 от 14 ноября 2017 года).

Заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
доктор медицинских наук по специальности
14.03.02 – патологическая анатомия,
профессор Макарова Ольга Васильевна

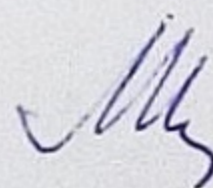


Заведующий лабораторией нейроморфологии
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
доктор биологических наук по специальности
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология,
Гореликов Петр Леонидович



117418, г. Москва,
ул. Цюрупы, д. 3
8(499)129 55 01
morfolhum@mail.ru

Подписи д.м.н., профессора Макаровой О.В. и д.б.н. Гореликова П.Л. заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ НИИМЧ,
д.м.н.



Л. П. Михайлова

В диссертационный совет Д 208.008.01
 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении
 высшего образования «Волгоградский государственный медицинский
 университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

В аттестационное дело Эковой Марии Рафаэлевны

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Полное наименование ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека» Сокращенное наименование: ФГБНУ НИИМЧ
Фамилия, имя, отчество, ученое звание руководителя ведущей организации	Макарова Ольга Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, директор
Фамилия, имя, отчество, ученое звание заместителя руководителя ведущей организации	Болтовская Марина Николаевна, доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе
Фамилия, имя, отчество, ученое звание сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Макарова Ольга Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления; Гореликов Петр Леонидович, доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией нейроморфологии

Адрес ведущей организации

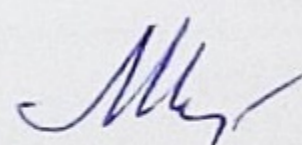
индекс	117418
объект	Российская Федерация
город	Москва
улица	Цюрупы
дом	3
телефон	8(499)120-80-65
e-mail	morfolhum@mail.ru
Web-сайт	http://www.morfolhum.ru

Работы сотрудников ведущей организации по теме диссертации:

1. Гореликов, П. Л. Нейроглиальные взаимодействия в механизмах энергообеспечения симпатического ганглия [Текст] / П. Л. Гореликов // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 41-44.
2. Харламова, А. С. Дополнительные обонятельные луковицы человека в пренатальном онтогенезе [Текст] / А. С. Харламова, С. В. Савельев, В. М. Барабанов // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 13-20.
3. Экспериментальные модели мультиформной глиобластомы человека [Текст] / Т. И. Хомякова, О. В. Макарова, А. С. Халанский, В. В. Федосеева, Л. П. Михайлова, Ю. Н. Хомяков // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2015. – Т. 13, № 1. – С. 60-69.
4. Некоторые аспекты морфологии нервной ткани головного мозга после острого нарушения мозгового кровообращения [Текст] / С. П. Сергеева, Л. М. Ерофеева, Л. В. Шишкина, П. Ф. Литвицкий, Е. В. Виноградов // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т. 23, № 3. – С. 130-135.
5. Аминова, Г. Г. Определение активности кислой фосфатазы в нервной ткани [Текст] / Г. Г. Аминова // Морфология. – 2016. – Т. 150, № 6. – С. 66-68.
6. Противоопухолевая активность доксорубицина в составе поли (лактидо-ко-гликолидных) наночастиц при экспериментальной глиобластоме [Текст] / В. В. Федосеева, А. С. Халанский, В. А. Мхитаров, И. С. Цветков, Ю. А. Малиновская, О. О. Максименко, С. Э. Гельперина, В. Ю. Балабаньян, В. А. Разживина, П. Л. Гореликов, Л. П. Михайлова, О. В. Макарова // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – Т. 22, № 2. – С. 65-71.
7. Роль апоптотических факторов в повреждении нервной ткани и восстановлении ее функционирования после ишемического инсульта [Текст] // С. П. Сергеева, Л. М. Ерофеева, А. А. Савин, П. Ф. Литвицкий, Л. В. Шишкина, В. В. Архипов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 156-163.

Ведущая организация подтверждает, что соискатель Экова Мария Рафаэлевна не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Ученый секретарь ФГБНУ НИИМЧ
доктор медицинских наук



Л. П. Михайлова

«23» октября 2017 г.

