

ОТЗЫВ

официального оппонента,

доктора медицинских наук Забродской Юлии Михайловны на диссертацию Медникова Дмитрия Сергеевича на тему «Морфофункциональные изменения гиппокампа при экспериментальном моделировании цереброваскулярной болезни», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.2. – Патологическая анатомия

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Д. С. Медникова посвящена морфопатогенетическим аспектам цереброваскулярной патологии, являющейся одной из самых важных не только медицинской, но социально-значимой проблемой. Настоящее исследование направлено на выявление закономерностей структурно-функциональной перестройки, изучение механизмов повреждения нейронов и нарушения нейрональной пластичности гиппокампа при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза общих сонных артерий.

Изучение структурных, протеомных и метаболомных изменений различных отделов головного мозга, возникающих в ответ на ишемическое повреждение, остаются на сегодняшний день актуальными направлениями в исследованиях по данной проблеме, необходимых для разработки новых стратегий этиопатогенетического лечения сосудистых повреждений головного мозга, профилактики и прогноза. Это касается в частности, исследований морфологической реорганизации нейронов, сигнальных путей апоптоза, влияния NO-синтаз, модуляторов нейропластичности необходимых для понимания адаптационных и патогенетических механизмов, а также репаративных способностей различных структур головного мозга при ишемии.

Гиппокамп, как важнейшая структура лимбической системы, принимает участие в формировании и регуляции когнитивных функций,

ориентации в пространстве, механизмах кратковременной и долгосрочной памяти и является одной из наиболее уязвимых структур головного мозга к различным повреждающим воздействиям, в первую очередь к ишемии. В связи с этим, гиппокамп является клинически значимой мишенью на ранних этапах сосудистых поражений головного мозга.

Несмотря на значительные успехи в изучении цереброваскулярных болезней, механизмы, лежащие в основе клеточного повреждения и гибели, а также процессы репарации и адаптации в гиппокампе при ишемии головного мозга остаются малоизученными. В связи с этим, проведенное Д.С.Медниковым экспериментальное изучение морфофункциональных изменений гиппокампа при моделировании различных патогенетических условий развития цереброваскулярных болезней представляет несомненный научный интерес и, безусловно, является актуальным и своевременным.

Степень обоснованности научных положений и выводов, достоверность полученных результатов

Выполненное диссертационное исследование полностью соответствует современным принципам доказательной медицины. В работе приведен убедительный подробный статистический анализ полученных данных. Достоверность полученных данных обеспечивается использованием комплексным методологическим подходом, использованием современных методик с использованием цифровых технологий. Достоверность исследования подтверждается достаточным количеством изученного материала, имеет пояснения, рисунки, графики, диаграммы, количественные характеристики.

Высокая степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, реализована адекватностью выбора современных методов морфологического анализа, грамотным планированием исследования, достаточным и достоверным экспериментальным материалом, наглядными иллюстрациями и табличными данными, проведенной статистической обработкой результатов экспериментов.

Научная обоснованность положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается также проведенным с помощью современных адекватных методов статистики, корректным анализом фактического материала. Оценивалась нормальность распределений, как измерений показателей по отдельным животным, так и показателей по группам, с использованием критерия Шапиро-Уилка с последующим применением непараметрического критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney, U-test). Данные представлялись в виде медианы (Me) с указанием интерквартильного размаха.

Выполненная работа характеризует автора как последовательного и тщательного исследователя. По каждой главе и работе сделаны выводы. Выводы и рекомендации полностью обоснованы и логично вытекают из полученных результатов работы.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертации не вызывает сомнения. Автором с использованием комплексного патоморфологического исследования, в том числе с иммуногистохимической оценкой и применением программного компьютерного морфометрического анализа на репрезентативном материале проведено изучение морфофункциональных изменений в различных зонах гиппокампа при моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза общих сонных артерий.

Автором сформулирована оригинальная научно-теоретическая концепция о цитоархитектонической и иммунофенотипической организации гиппокампа при моделировании ишемии головного мозга, что рассматривается как ключевой морфофункциональный субстрат в реализации процессов клеточной гибели, адаптации, включающие различные механизмы нейропластичности.

В результате исследования автором установлено, что в гиппокампе крыс в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии и

моделируемого стеноза сонных артерий в зонах CA1 и CA3 пирамидного слоя наблюдается значительное нарушение нейро-глио-сосудистых взаимоотношений, связанное с дегенеративными изменениями нейронов и адаптационной реорганизацией нейропиля.

Автором уточнен механизм нейрональной смерти с разными экспериментальными моделями цереброваскулярной болезни. Впервые продемонстрировано, что увеличение экспрессии маркера каспаз-независимого апоптоза AIF в сочетании с различиями в экспрессии проапоптотического маркера bax на фоне отсутствия экспрессии каспазы-3 характеризует пирамидные нейроны CA1 гиппокампа крыс.

Впервые отмечена ведущая роль iNOS в образовании NO, участвующего в модуляции нейропластичности, в пирамидном слое гиппокампа крыс как при моделировании гипертензивной энцефалопатии, так и при моделировании стеноза сонных артерий.

Выявлено участие сериновой рацемазы в опосредовании эксайтотоксического повреждения для CA1 гиппокампа крыс из обеих экспериментальных групп.

Продемонстрировано, что для обеих экспериментальных групп характерна реактивная реакция астроцитарной глии, приобретение ей провоспалительного фенотипа и усиление экспрессии GFAP с развитием астроглиоза.

Значимость для науки

Работа Медникова Д. С. выполнена в рамках НИОКТР кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России АААА-А17-117022850040-4 от 28.02.2017г. «Морфофункциональные аспекты процессов адаптации, повреждения, регенерации, нарушений обмена веществ при инфекционных заболеваниях, болезнях системы кровообращения, заболеваниях нервной, эндокринной и других систем». Полученные автором данные в значительной степени расширяют имеющиеся представления о морфофункциональных изменениях гиппокампа в условиях ишемии и могут быть использованы при проведении научно-исследовательских работ по

изучению механизмов влияния ишемии головного мозга на процессы нейронального повреждения, репаративных возможностей и аутофагии, а также при разработке фармакологических препаратов направленного действия при состояниях, связанных с острой и хронической ишемией головного мозга.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа объемом 176 страниц машинописного (компьютерного) текста построена по традиционному плану, содержит 9 таблиц и 59 рисунков и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение полученных результатов собственного исследования, обсуждение результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив разработки темы, списка сокращений и списка литературы, включающего 203 источника, в том числе, 57 отечественных и 146 зарубежных.

Во **введении** автором раскрыта и доказана актуальность темы работы. Диссертантом четко сформулирована цель работы, для реализации которой предусматривается решение 4 конкретных задач. Данный раздел содержит сведения о научной новизне и научно-практической значимости представленной работы. Здесь же сформулированы 3 положения, выносимые на защиту, которые обоснованы грамотным методологическим подходом к исследованию. Представлена информация об апробации работы и публикациях, а также личном вкладе автора в данную работу.

В главе 1 диссертации представлен аналитический обзор данных отечественной и зарубежной литературы изучаемой проблемы. Глава состоит из трех частей, в которых дано описание современных представлений о цереброваскулярной болезни, возникающих при различных формах ЦВБ структурных и функциональных изменениях в гиппокампе, а также способам моделирования острых и хронических нарушений мозгового кровообращения. На основании критического анализа данных литературы в тексте обзора выделены спорные или неполные данные, нерешенные

вопросы и обоснована необходимость выполнения данного диссертационного исследования.

Глава 2 посвящена описанию материалов и методов исследования. Дано подробное описание моделирования цереброваскулярной болезни, которое проводилось совместно с сотрудниками кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, описаны экспериментальные группы животных: животные с моделируемой гипертензивной энцефалопатией и животные с моделируемым стенозом общих сонных артерий. При проведении экспериментов учитывались требования комиссии по проблеме этики отношения к животным и этические нормы, признанные мировым сообществом. Корректное и адекватное задачам экспериментальное исследование позволило с достоверностью оценивать изменения гиппокапа при ишемии. В ней приведена общая характеристика исследованного материала, в необходимом объеме дано описание использованных методов исследования, среди которых классические методы гистологического исследования, иммуногистохимический метод, а также методы статистической обработки, полностью соответствующие характеру проводимых исследований. В соответствии с задачами составлена и обоснована панель первичных антител для иммуногистохимического анализа.

Глава 3 содержит описание полученных результатов, которое составляет основную часть работы (67 стр.). Глава состоит из трех основных разделов – 3.1., 3.2. и 3.3. В разделе 3.1. главы 3 приведены результаты исследования гиппокампа крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией. При использовании окрашивания тионином по методу Ниссля продемонстрированы особенности цитоархитектоники гиппокампа правого и левого полушарий головного мозга крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии методом отрицательных продольных перегрузок. Установлено, что в гиппокампе обоих полушарий головного мозга крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией глубокие

дегенеративные изменения, заключающиеся в процессах обратимого и необратимого повреждения, а также атрофические изменения имеют асимметричный характер и несколько более выражены в гиппокампе правого полушария. Иммунофенотипическая характеристика дана автором с учетом изменения экспрессии маркеров каспаз-зависимого и каспаз-независимого апоптоза (каспаза-3, AIF), различных изоформ NO-синтаз (iNOS, eNOS, nNOS), белков теплового шока (Hsp70 и Hsp90), сериновой рацемазы, маркеров аутофагии (LAMP-2, beclin 1), bcl-2, GFAP и bax.

В разделах 3.2. главы 3 представлена патоморфологическая и иммуногистохимическая характеристика с использованием вышеуказанных биомаркеров гиппокампа крыс при моделировании стеноза общих сонных артерий и при фармакологической коррекции моделируемой гипертензивной энцефалопатии.

В разделах 3.3. главы 3 дана гистологическая и морфометрическая характеристика гиппокампа экспериментальных животных с фармакологической коррекцией препаратами С-40 и глиатилином

Результаты полученных исследований проиллюстрированы микрофотографиями, наглядными графиками и таблицами, что подтверждает их объективность. Дается богатое описание структурных характеристик клеток в гиппокампе с тщательной оценкой обнаруженных изменений. Наличие отдельных заключений в подглавах существенно облегчает анализ полученных данных по каждому этапу исследования. В целом, представленные результаты характеризуются новизной и оригинальностью.

Таким образом, автором на основе экспериментального исследования с моделированием различных патогенетических условий развития цереброваскулярных болезней (гипертензия и ишемия) с использованием патоморфологического, иммуногистохимического и морфометрического методов показан характер морфо-функциональных изменений в гиппокампе и возможность фармакологической коррекции данных состояний.

Обсуждение результатов и заключение представляет собой критический анализ полученных результатов и их сопоставление с литературными данными. На 24 страницах текста выполняется анализ данных гистологического, иммуногистохимического и морфометрического исследований, производится сравнение полученных результатов с имеющимися в литературе, что позволило сформулировать автору положения, выносимые на защиту и выводы, основанные на комплексном анализе качественных и количественных морфофункциональных изменений в структурах гиппокампа при моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза общих сонных артерий, что определяет ценность и новизну исследования Д. С. Медникова.

Несомненным достоинством работы является использование доказательных методов медицины, объективизирующих характер структурных изменений в гиппокампе, в том числе применение автоматизированного морфометрического анализа нескольких тысяч показателей, включающего в себя оценку иммунофенотипа с последующей компьютерной программной морфометрией и статистическим анализом данных. Таким образом, на основании представленного объёма морфометрических данных можно говорить о репрезентативности исследования и возможности экстраполяции результатов на генеральную совокупность.

Полученные результаты позволили автору сформулировать семь выводов, которые соответствуют задачам исследования.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Автореферат соответствует результатам диссертации и полностью отражает её содержание. По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из них 10 в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и

доктора наук. Основные результаты работы использованы в педагогическом процессе на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, внедрены в научную работу ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», практическую работу ГБУЗ «Волгоградское областное патологоанатомическое бюро», ЧУЗ «РЖД-Медицина»».

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию работы Медникова Д. С. нет. В рамках дискуссии перед автором могут быть поставлены следующие вопросы, уточняющего характера:

1. Чем продиктован выбор иммуногистохимических маркеров LAMP-2 и beclin 1 для выявления аутофагии?
2. Какие из признаков повреждения пирамидных нейронов вы относите к обратимым и необратимым?
3. Влияет ли вид механизма (гипертензия или стеноз), вызывающий ишемию в головном мозге, на характер и тяжесть морфофункциональных изменений структур гиппокампа?

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Медникова Дмитрия Сергеевича «Морфофункциональные изменения гиппокампа при экспериментальном моделировании цереброваскулярной болезни» является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной задачи - выявление закономерностей морфофункциональных изменений различных зон гиппокампа в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии и стеноза общих сонных артерий с формулировкой оригинальной научно-теоретической концепции о цитоархитектонической и иммунофенотипической организации гиппокампа при ишемии головного мозга, что имеет существенное значение для патологической анатомии.

По актуальности темы, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности и новизне полученных результатов, полноте опубликованных материалов диссертационного исследования, их значимости для науки и практики диссертация Медникова Дмитрия Сергеевича полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016г. №335, от 02.08.2016г. №748, от 29.05.2017г. №650, от 28.08.2017г. №1024, от 01.10.2018г. №1168, от 20.03.2021г. №426, от 11.09.2021г. №1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель Медников Дмитрий Сергеевич достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2.— Патологическая анатомия.

Заведующий научно-исследовательской лабораторией патоморфологии нервной системы
Российского научно-исследовательского
нейрохирургического института
имени профессора А. Л. Поленова
– филиала федерального государственного
бюджетного учреждения «Национальный
медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,

доктор медицинских наук по специальности
3.3.2. – патологическая анатомия

Забродская Юлия Михайловна

191014, г. Санкт-Петербург,
ул. Маяковского, д. 12;
телефон +7 (812) 702-37-49
E-mail: zabrjulia@yandex.ru

«30» мая 2022 года



Сведения

об официальном оппоненте

по диссертации Медникова Дмитрия Сергеевича на тему «Морфофункциональные изменения гиппокампа при экспериментальном моделировании цереброваскулярной болезни» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. – Патологическая анатомия

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (с указанием организации, ее ведомственной принадлежности, города), должность, телефон, email	Ученая степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация – в соответствии с номенклатурой 2021 г.)	Ученое звание (по специальности, кафедре)	Шифр специальности и отрасли науки	Основные работы по профилю диссертации
Забродская Юлия Михайловна	1965 г.р., РФ	Российский научный исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства	Доктор медицинских наук по специальности 3.3.2. – Патологическая анатомия (медицинские науки)		3.3.2. – Патологическая анатомия (медицинские науки)	1. Рында, А. Ю. Сравнительный анализ флуоресцентной навигации в хирургии злокачественных глиом с использованием 5-АЛА и хлорина Е6 / А. Ю. Рында, В. Е. Олошин, Д. М. Ростовцев, Ю. М. Забродская [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2022. – № 1. – С. 5-14. 2. Рында, А. Ю. Морфологическая оценка эффективности

	<p>здравоохранения Российской Федерации; г. Санкт-Петербург; заведующий научно- исследовательской лабораторией патоморфологии нервной системы; РФ, 191014, г. Санкт-Петербург, ул. Маяковского, д. 12; телефон +7 (812) 702-37-49 доб.001699; zabrgulia@yandex.ru</p>			<p>флуоресцентной навигации с хлорином еб в хирургии злокачественных глиом / А. Ю. Рында, Ю. М. М. Забродская, В. Е. Е. Олюшин [и др.] // Архив патологии. – 2021. – Т. 83. – № 5. – С. 13-20. 3. Литовченко, А. В. Экспрессия маркеров нейровоспаления и апоптоза в височной доле головного мозга у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией / А. В. В. Литовченко, Ю. М. М. Забродская, Д. А. А. Ситовская [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2021. – Т. 57. – № 5. – С. 411-419. 4. Бажанова, Е. Д. Д. Роль цитокинзависимых сигнальных путей в патогенезе фармакорезистентной эпилепсии / Е. Д. Д. Бажанова, Ю. М. М. Забродская, А. В. В.</p>
--	--	--	--	---

Литовченко, И. И. // Яковлева // Естественные науки. – 2021. – № 1. – С. 14-22.

5. Назаралиева, Э. Т. Некоторые генетические маркеры низкокачественных глиом головного мозга у детей и их потенциалное значение в разработке терапии / Э. Т. Назаралиева, А. П. Герасимов, Ю. М. Забродская [и др.] // Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова. – 2021. – Т. 13. – № 4. – С. 103-110.

6. Ситовская, Д. А. Структурная гетерогенность эпилептических очагов при локальной фармакорезистентной эпилепсии / Д. А. Ситовская, Ю. М. Забродская, Т. В. Соколова [и др.] // Архив патологии. – 2020. – Т.

						82. – № 6. – С. 5-15. 7. Забродская, Ю. М. Патоморфологические проявления перитуморозного воспаления при опухолях головного мозга / Ю. М. Забродская, Т. В. Жукова, А. Ф. Смянович [и др.] // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2020. – Т. 10. – № 3. – С. 392-399.
--	--	--	--	--	--	--

Заведующий научным отделом
 Российского научно-исследовательского
 нейрохирургического института имени профессора А. Л. Поленова
 филиала федерального государственного бюджетного
 учреждения «Национальный медицинский
 исследовательский центр имени В. А. Алмазова»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации

Иванова Наталья Евгеньевна

Подпись *Ивановой Н.Е.*
 УДОСТОВЕРЯЮ
Иванова Наталья Евгеньевна
 «15» апреля 2022 г.



«15» апреля 2022 года