

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора Зиматкина Сергея Михайловича на диссертационную работу Вадюхина Матвея Анатольевича на тему «Нейроваскулярные и иммунные аспекты клеточно-тканевого ответа при инфаркте головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология

Актуальность избранной темы

Ишемический инсульт занимает ведущие позиции среди причин смертности и инвалидизации, что обуславливает необходимость углубленного изучения механизмов повреждения и восстановления нервной ткани. Вместе с тем, несмотря на значительное количество исследований, многие ключевые звенья патогенеза ишемического повреждения, особенно в контексте возрастной изменчивости и межклеточных взаимодействий, остаются недостаточно изученными.

При этом актуальным является рассмотрение механизмов возрастной редукции нейрогенетического и ангиогенетического потенциала нервной ткани через призму изменчивости эмбрионально-заложенных программ регуляции нейроваскулярных взаимодействий. Кроме того, остается малоизученным влияние иммунных клеток на механизмы нейрогенеза, ангиогенеза при реализации нейропластического и репаративного потенциала структур головного мозга, а также клеточно-тканевого ответа при ишемическом повреждении.

Актуальность работы М.А. Вадюхина также обусловлена явным дефицитом исследований, проведенных на гистологических препаратах головного мозга человека. В современной научной литературе по биологии развития преобладают экспериментальные модели, а полученные результаты не всегда воспроизводимы для человека вследствие межвидовых различий. Учитывая очевидные трудности получения аутопсийного материала, а также значительные отличия гистологии в зависимости от отдела головного мозга, проведение анализа фрагментов лобной доли коры головного мозга в достаточном количестве является несомненным преимуществом, существенно увеличивая научную и практическую значимость исследования.

Таким образом, представленная работа Вадюхина Матвея Анатольевича отвечает актуальным направлениям современной биологии развития, поскольку посвящена

выявлению возрастной трансформации нейроваскулярных взаимодействий и иммунной реактивности в нервной ткани в условиях ишемического повреждения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений, представленных в диссертации М.А. Вадюхина, обусловлена высокой гомогенностью выборки, современным набором методов исследования и комплексным анализом результатов гистологических, иммуногистохимических и молекулярных изменений. Существенным преимуществом работы является использование аутопсийного материала человека, что повышает клинико-ориентированную значимость результатов, выводов и практических рекомендаций. Полученные данные демонстрируют согласованность регуляции нейрогенных, ангиогенных и иммунных механизмов, а их интерпретация с позиций биологии развития теоретически обоснована.

Выводы логически следуют из результатов и полностью отражают выявленные закономерности. Сформулированные практические рекомендации могут послужить основой для повышения точности патоморфологической диагностики, персонализации лечения и реабилитации пациентов с ишемическим инсультом, а также учета возраста как важного модифицирующего фактора при проведении дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и обеспечена достаточным количеством репрезентативного аутопсийного материала лобной доли коры головного мозга. Формирование возрастных групп в соответствии с наиболее часто применяемой классификацией ВОЗ позволяет проследить динамику клеточно-тканевого ответа в постнатальном онтогенезе. В соответствии с поставленной целью и задачами использован широкий комплекс современных методов биологии развития – гистологический, морфометрический, иммуногистохимический, в том числе мультиплексный иммунофлуоресцентный и молекулярно-генетический анализ. Статистическая обработка полученных данных подтверждает высокую степень их достоверности и воспроизводимости.

Научная новизна исследования сформулирована с позиций биологии развития элементов нервной ткани в постнатальном онтогенезе с экскурсом в эмбриональную детерминацию фундаментальных механизмов нейрогенеза, проводя параллели с нейроваскулярными и иммунными взаимодействиями в коре головного мозга человека при ишемическом повреждении.

Впервые показана модуляция интенсивности нейрогенетического потенциала и пластичности нервной ткани в норме и в условиях нейродегенерации на основании ко-локализации маркеров зрелых и метаболически активных нейронов (NeuN, NSE) и апоптотически погибающих нейронов (caspase-3). Был разработан индекс caspase-3⁺/NeuN⁺ нейронов, отражающий угнетение нейрогенетического потенциала в зоне пенумбры в когорте пожилых пациентов. Кроме того, при анализе экспрессии ключевых генов PI3K/Akt-сигналинга обнаружено преобладание проапоптотических и провоспалительных эффектов вследствие активации оси PI3K/Akt/FOXO3A у пожилых людей, что указывает на возрастную инволюцию нейрогенетического, пластического и репаративного потенциала нервной ткани.

Впервые при анализе ко-локализации CD31⁺CD105⁺TGF- β , экспрессии участников триггерных сигнальных путей TGF- β и NF κ B показана активация эндотелиальных клеток, приводящая к выраженному ангиогенезу, регулируемому VEGF-A, особенно у лиц молодого возраста. У пожилых людей это сопровождается увеличением продукции TGF- β и NF κ B как ключевых триггеров синтеза провоспалительных цитокинов и миграции иммунных клеток в рамках клеточно-тканевого ответа на ишемическое повреждение.

Впервые, у молодых обнаружено доминирование M2-фенотипа макрофагов в воспалительном инфильтрате, что указывает на высокий потенциал тканевой пластичности и репарации нервной ткани. Напротив, преобладание провоспалительного M1-фенотипа макрофагов у пожилых способствует вторичному повреждению нейронов. Среди других участников иммунного воспаления обнаружили увеличение количества NK и NKT клеток у лиц молодого возраста, возраст-ассоциированную потерю IFN-опосредованной цитотоксичности, усиленную миграцию Т-лимфоцитов у пожилых. Установленные различия в соотношении NK/NKT/Т-клеток и степени ко-локализации CD3⁺CD45⁺CD56 при ишемическом инсульте мозга отражают механизмы возрастной модуляции клеточно-тканевого ответа, в том числе определяя характер вторичного повреждения нейронов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

С теоретической точки зрения работа М.А. Вадюхина формирует целостное представление о клеточно-тканевом ответе при ишемическом повреждении головного мозга как о сложной интегрированной системе взаимодействий нейрональных, сосудистых и иммунных компонентов. Особенно интересным представляется рассмотрение этих процессов с позиций биологии развития, что позволяет интерпретировать выявленные изменения как проявление реактивации и модификации эмбриональных программ, регулирующих нейрогенез, ангиогенез и межклеточные сигнальные взаимодействия. Такой подход существенно расширяет существующие представления о патогенезе ишемического инсульта и вносит вклад в развитие концепции нейроваскулярной единицы как динамической морфофункциональной системы.

Принципиально важным является углубление представлений о нейроваскулярной единице как о саморегулирующейся системе, обеспечивающей поддержание локального гомеостаза и координацию процессов выживания, метаболизма и репарации нейронов. Особую ценность представляет интерпретация выявленных изменений с позиций онтогенеза: показано, что возрастные различия в активности сигнальных путей, в том числе PI3K/Akt/mTOR и PI3K/Akt/FOXO3a, отражают закономерную трансформацию нейропластичности, связанную с ослаблением регенераторного потенциала и усилением проапоптотических механизмов в пожилом возрасте. Существенным достижением является также выявление возрастных особенностей ангиогенеза и нейроваскулярных взаимодействий, а также обоснование роли дисрегуляции эмбриональных программ как одного из факторов формирования нейродегенеративных и нейровоспалительных процессов. Важным теоретическим результатом следует считать установление интегративной роли TGF- β в координации повреждения гематоэнцефалического барьера, воспалительного ответа и миграции иммунных клеток, что позволяет рассматривать нейровоспаление, нейродегенерацию и репарацию как взаимосвязанные звенья единого патогенетического процесса.

Практическая значимость исследования определяется возможностью использования полученных данных для повышения точности морфологической диагностики и клинико-прогностической оценки ишемического поражения головного мозга, а также для разработки персонализированных стратегий лечения и реабилитации пациентов, что подчеркивает высокую прикладную ценность выполненной работы.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация на тему «Нейроваскулярные и иммунные аспекты клеточно-тканевого ответа при инфаркте головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук соответствует паспорту научной специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология; области исследования диссертационной работы соответствуют пунктам: 1, 2, 3, 13.

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 2 научные статьи в научных изданиях, индексируемых в наукометрической базе данных RSCI; 2 статьи в издании, индексируемом в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежной конференции).

Оценка содержания работы, ее завершенности в целом

Диссертационная работа М.А. Вадюхина представляет собой рукопись на русском языке объемом 244 страницы машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов, главы с результатами собственного исследования, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 62 рисунками. Список цитируемой литературы включает 303 источника, из которых 33 отечественных, 270 – зарубежных.

Во введении автор обозначает актуальность исследования и степень разработанности проблемы, формулирует цель и задачи, отражает новизну и значимость работы, приводит положения, выносимые на защиту.

В первой главе диссертации (Обзор литературы) автором представлен развернутый анализ современных представлений о формировании и функционировании нейроваскулярной единицы, начиная с эмбрионального периода и заканчивая постнатальным онтогенезом, с особым акцентом на взаимосвязь нейрогенеза,

ангиогенеза и иммунных взаимодействий. Отдельно проведен анализ экспериментальных данных о механизмах ишемического повреждения в головном мозге.

Во второй главе (Материалы и методы исследования) подробно изложены характеристики аутопсийного материала, принципы формирования групп с учетом возрастного фактора, описаны критерии включения и исключения для обеих групп. Методология гистологического, морфометрического, иммуногистохимического, в том числе мультиплексного иммунофлуоресцентного, а также молекулярно-генетического и статистического анализа обеспечивает достоверность и воспроизводимость полученных данных.

В главе собственных результатов приведена подробная характеристика выборки с высокой степенью однородности и четкой возрастной стратификацией, что позволяет обоснованно сопоставлять морфологические изменения с периодами постнатального онтогенеза. Продемонстрировано, что с увеличением возраста возрастает соматическая отягощенность и тяжесть течения ишемического инсульта, что создает клиническую основу для интерпретации выявленных морфологических различий.

При исследовании нейрогенеза автором получены морфологические данные, отражающие возраст-зависимую динамику нейрональной пластичности. Результаты анализа условно интактной коры головного мозга подтверждают постепенное сокращение количества нейронов в динамике постнатального онтогенеза даже в отсутствие ишемического повреждения. В группе ишемического инсульта гистологически установлены типичные зоны паннекроза и пенумбры с различной степенью клеточной гибели.

Особый интерес представляет дополнение классических методов окрашивания с мультиплексным иммунофлуоресцентным анализом, позволяющим детектировать инициацию апоптотической гибели в морфологически целостных нейронах. В динамике первой недели обнаружено, что у молодых пациентов сохраняется высокая метаболическая активность нейронов с последующей активацией репаративных процессов, тогда как в пожилом возрасте длительно сохраняются явления хроматолиза, снижение экспрессии нейрональных маркеров и прогрессирующая активация апоптотического каскада, что отражает возрастную редукцию нейропластичности.

Результаты дополнены оценкой проангиогенного сигналинга и подсчетом количества кровеносных сосудов, демонстрирующими аналогичную возрастную динамику. У лиц молодого возраста выявили выраженную компенсаторную активацию ангиогенеза с увеличением числа эндотелиальных клеток (CD31) и активацией

проангиогенного фактора VEGF, показан двухфазный характер сигналинга, что соответствовало последовательной смене стадий воспаления и репарации. В пожилом возрасте, напротив, обнаружена устойчивая редукция сети кровеносных сосудов и угнетение проангиогенного потенциала, подтверждая разобщение нейроваскулярного взаимодействия и снижение трофической поддержки нервной ткани.

Иммунофенотипирование клеточного воспалительного инфильтрата позволило автору выявить принципиально различные паттерны нейровоспаления в зависимости от периода постнатального онтогенеза. Полученные результаты подтверждают, что в молодом возрасте воспалительная реакция носит фазовый, автономно регулируемый характер с четким переключением фенотипа макрофагов от провоспалительного к репаративному, а также сбалансированным участием лимфоцитарных популяций. В пожилом возрасте формируется устойчивый провоспалительный статус с преобладанием M1-макрофагов, нарушением межклеточной регуляции и длительным сохранением провоспалительного сигналинга, подтвержденного результатами молекулярно-генетического анализа.

Справедливо сформулирован вывод о вторичном повреждении нейронов иммунными клетками, объясняя прогрессирующую гибель нейронов в коре головного мозга пациентов старших возрастных групп в отсроченном периоде ишемического повреждения.

Особым достоинством главы результатов собственного исследования является наличие кратких резюме, подводящих промежуточные итоги и сопоставляющих полученный результат с изменениями, выявленными при проведении других методов исследования.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор сопоставляет собственные данные между собой и с имеющимися источниками литературы по заявленной проблеме.

В Заключение автор логически подходит к подведению итогов, сопоставляя полученные данные с фундаментальными положениями биологии развития.

Таким образом, диссертационная работа Вадюхина Матвея Анатольевича является завершенным исследованием, производит целостное впечатление: материал изложен последовательно, методология обоснована, выводы соответствуют поставленной цели и задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат соответствует рукописи диссертации. В нем отражены ключевые результаты исследования и основные итоги статистического анализа, подтверждающие положения, выносимые на защиту. Автореферат содержит высококачественные цветные микрофотографии, хорошо иллюстрирующие основные полученные результаты.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Особую значимость диссертационной работе М.А. Вадюхина придает комплексный подход к оценке нейроваскулярных и иммунных взаимодействий, рассматриваемых не изолированно, а как единую интегрированную систему, формирующую клеточно-тканевую ответ при ишемии. Автор обоснованно указывает на сохранение в постнатальном онтогенезе эмбрионально-заложенных программ регуляции нейро-, ангиогенеза и адаптации нервной ткани, а также их участие в определении степени пластических и репаративных процессов. В связи с этим, понимание возрастной изменчивости этих базовых механизмов регуляции в головном мозге потенциально позволит повысить точность результатов, полученных в будущих экспериментальных и клинических работах.

Не менее важным является акцент на возраст-ассоциированной дисрегуляции клеточно-тканевого ответа и последовательной смене фенотипа иммунных клеток. В большинстве опубликованных работ, посвященных нейровоспалению, возраст либо не учитывается, либо рассматривается как незначительный параметр, что может существенно ограничить интерпретацию результатов. М.А. Вадюхин представляет возраст как один из ключевых факторов, определяющих различия в интенсивности нейрогенеза, ангиогенеза, степени воспалительной реакции и регенеративном потенциале нервной ткани. Такой подход полностью обосновывает выбор специальности, фундаментальные принципы которой позволяют выявить закономерности трансформации заложенных на эмбриональном этапе программ.

Достоинством данной диссертационной работы является сочетание классического гистологического, морфометрического, иммуногистохимического методов с мультиплексным иммунофлуоресцентным, а также молекулярно-генетическим анализом. Следует особо подчеркнуть высокое качество иммунофлуоресцентных микрофотографий. Вместе с тем иллюстрации нейрогистологической части

исследования (окраска по методу Ниссля) представлены только на малом увеличении, что пригодно для демонстрации числа нейронов, но не их структуры, описанной в тексте: «В некоторых нейронах обнаружили фрагментацию и частичную дисперсию хроматофильной субстанции, неоднородность цитоплазматического окрашивания и участки умеренной периферической хроматолизной перестройки. В ряде случаев отмечали нейроны с небольшим перикарионом, слабой базофилией и бледностью цитоплазмы».

Диссертация написана хорошим научным языком, ясно и понятно. Лишь, иногда встречаются выражения типа «круциальная роль», которое можно было бы заменить на более удачное, например: важная, существенная, решающая, критическая роль (в зависимости от контекста).

Однако эти мелкие замечания не принципиальны и не умаляют явных достоинств диссертации. По характеру материала, сочетанию широкого спектра хорошо подобранных иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов исследования, объему и качеству полученных результатов, их глубокому обсуждению и важным выводам, работа обладает большой теоретической и практической значимостью. Обращает на себя внимание количество публикаций по теме диссертации, две из которых – в высокорейтинговом журнале с пятилетним импакт-фактором более 5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Вадюхина Матвея Анатольевича на тему: «Нейроваскулярные и иммунные аспекты клеточно-тканевого ответа при инфаркте головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи современной медицинской науки – выявлены возрастные особенности нейроваскулярных взаимодействий, раскрыты механизмы клеточно-тканевого ответа, определяющие направление и выраженность пластических и репаративных процессов коры головного мозга в норме и при ишемическом инсульте, имеющей существенное значение для специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология (медицинской науки).

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная диссертация полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский

государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023 г., приказом №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Вадюхин Матвей Анатольевич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Заслуженный деятель науки Республики Беларусь,
доктор биологических наук (1.5.22. Клеточная биология),
профессор

С.М. Зиматкин

Зиматкин

Подпись д.б.н., профессора С.М. Зиматкина заверяю:



Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»
(УО «Гродненский государственный медицинский университет»)
230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, д. 80.
тел.: +375 152 44-36-52.
сайт: <https://www.grsmu.by>
E-mail: mailbox@grsmu.by

Дата « 30 » апреля 2026 г.