

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Варенцова Вячеслава Евгеньевича на тему «Особенности активизации нейрогенеза в обонятельных луковицах крыс при экспериментальных воздействиях» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность темы исследования

Диссертационное исследование Варенцова В.Е. посвящено актуальной теме современной гистологии: изучению нейрогенеза в постнатальном периоде развития организма. Вопросы пролиферации нейронов головного мозга после рождения в настоящий момент вызывают наибольшее количество дискуссий среди специалистов в области гистологии и нейрофизиологии. Работы Ф. Ноттеба (1989), П. Эриксона (1998), Э. Гоулд (1999), продемонстрировавшие образование новых нейронов в головном мозге взрослых животных, до сих пор вызывают жаркие споры. В последнее десятилетие в специализированной литературе наблюдается стойкое повышение количества публикаций результатов исследований, посвященных данной теме. Известно, что клетки, которые по своим свойствам могут быть отнесены к нейральным стволовым клеткам, у взрослых млекопитающих обнаруживаются в своеобразных нишах, располагающихся в строго определенных зонах: субвентрикулярная зона передних рогов боковых желудочков, субгранулярная зона зубчатой извилины гиппокампа и обонятельная луковица. Выбор обонятельной луковицы в качестве региона изучения процессов нейрогенеза в данном исследовании следует признать удачным, так как полученные данные с определенными оговорками можно экстраполировать на человека. Из доступной литературы известно, что рецепторные нейроны обонятельного назального эпителия постоянно образуются на протяжении всей жизни человека из специфического предшественника – нейральной стволовой клетки обонятельного эпителия. Считается, что из этих клеток образуются и промежуточные прогениторы амплифаерные клетки, представляющие собой промежуточные прогениторы, которые дают начало непосредственным монопотентным предшественникам обонятельных рецепторных клеток. Следует отметить, что стволовые и амплифаерные клетки, которые мигрируют в обонятельные луковицы из субвентрикулярной зоны, располагаются в последнем гранулярном слое, в котором происходит их дифференцировка в митральные, гломерулярные и перигломерулярные нейроны. Также известно, что кроме нейронов, из нейральных стволовых клеток в обонятельной луковице образуются также все типы глиальных клеток. Вместе с тем остается открытым вопрос сменяемости фаз нейрогенеза в зависимости от физиологических и патологических процессов в организме как человека, так и лабораторных

животных. В свою очередь, вопрос о возрастных особенностях активности нейрогенеза в обонятельных луковицах крыс первого полугодия жизни изучен отрывочно, по изолированным маркерам, что затрудняет оценку этого процесса в соответствии с фазами пролиферации, дифференцировки, миграции и интеграции в их нейрональную структуру.

В результате анализа данных уже проведенных исследований можно утверждать, что в настоящий момент сам процесс нейрогенеза во взрослом мозге не вызывает сомнения, но наиболее важным остается вопрос использования накопленных о нем знаний с позиций управления пролиферацией и дифференцировкой нейронов, а также клинического применения. Кроме того, сравнивая модели на животных с имеющимися данными о нейрогенезе в мозге человека, мы можем достичь более глубокого понимания его процессов.

С этих позиций диссертационное исследование Варенцова В.Е. является актуальным и своевременным.

Степень обоснованности научных положений и выводов, достоверность полученных результатов

Описание исследуемых структур мозга соответствует представленным в диссертации их изображениям. Научные положения диссертационной работы обоснованы грамотным методологическим подходом к исследованию. Достоверность полученных автором результатов основана на достаточном объеме выборки грамотным планированием исследовательской работы, использованием адекватных цели, задач, для решения которых применены современные методы исследования. Результаты исследования проиллюстрированы достаточным количеством рисунков и таблиц. Научная обоснованность положений и выводов, сформулированных в диссертации, также подтверждается проведенным с помощью современных адекватных методов статистики корректным анализом фактического материала.

Полученные автором результаты можно рассматривать как достоверные и значимые, а на основании представленного объема морфометрических данных можно говорить о репрезентативности исследования и возможности экстраполяции результатов на генеральную совокупность. Выводы логично и закономерно вытекают из содержания работы.

Научная новизна исследования

Диссертационное исследование Варенцова В.Е. носит фундаментально-теоретический характер, но при этом не лишено значимости для практики.

Результаты представленной работы показали, что активность пролиферации клеток в обонятельных луковицах зависит от возраста животного и слоя расположения клеток. Впервые получены данные о возрастной гистотопографии распределения пролиферации (Ki-67), нейрогенеза (нестина и даблкортина), и экспрессия n-NOS в различных слоях обонятельных луковиц крыс с неонатального периода до зрелого возраста. Впервые показано, что динамика относительной плотности DCX иммунореактивных нейрональных структур в раннем постнатальном периоде крысы зависит от возраста и имеет особенности относительно слоя. Новыми являются данные об особенностях изменений клеточных субпопуляций нейронов обонятельной луковицы в условиях моделей нейростимуляции и нейродегенерации. Показано, что реакция на стимуляцию и на введение капсаицина характерна только для субпопуляции n-NOS⁺ нейронов гранулярного слоя.

Значимость для науки и практики

Значимость работы определяется полученными данными о фазном изменении толщины слоев обонятельной луковицы, гетерохронии их формирования и раннем начале их истончения, сопровождающемся снижением активности пролиферации к периоду полового созревания.

Очевидное значение для практической медицинской деятельности может иметь предложенный набор маркеров и выбранный объект исследования, которые могут быть использованы для комплексной оценки влияния различных веществ на нейрогенез в детском и зрелом организме, позволяя оценивать и прогнозировать реакцию остальных стволовых ниш головного мозга и направление компенсаторного процесса в целом.

Следует указать на необходимость проведения подобных исследований, направленных на понимания основ структурных трансформаций головного мозга в разные периоды жизни. Экспериментальные данные, полученные в представленном исследовании, могут быть сопоставлены с результатами гистологических и нейрофизиологических наблюдений за процессами нейрогенеза у человека, и могут составить основу для дальнейшей разработки новых методов стимуляции образования новых нейронов в головном мозге зрелого организма.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа объемом 157 страниц машинописного текста построена по традиционному плану и включает «Введение», «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», 4 главы собственных исследований, «Обсуждение результатов исследования», «Выводы»,

«Практические рекомендации» и список цитируемой литературы из 227 источников - 48 отечественных и 179 зарубежных авторов.

В главе «Обзор литературы» диссертации представлен аналитический обзор данных литературы по изучаемой проблеме. Глава состоит из шести частей, в которых освещаются современные данные о ключевых моментах исследования. На основании критического анализа данных в тексте обзора в качестве резюме выделены нерешенные вопросы и обоснована необходимость диссертационного исследования.

Глава 2 посвящена описанию материала и методов исследования. В ней приведена общая характеристика исследованного материала, в необходимом объеме дано описание использованных методов исследования, среди которых присутствуют нейрогистологические методы окрашивания (окраска по Нисслю), иммуногистохимические методы, используемые для выявления следующих белков: Даблкортина (DCX), Нестина (Nestin), Ki-67, Нейрональной NO-синтазы (n-NOS), методы морфометрической оценки нейронов и статистические методы обработки данных.

Основную долю работы составляет ее часть, посвященная описанию результатов собственных исследований, состоящая из четырех подглав. Данный раздел отличает скрупулезность описания гистологических и иммуногистохимических признаков изменения толщины и клеточного состава слоев обонятельной луковицы у подопытных животных. Использованные маркеры позволили оценить активность нейрогенеза в обонятельной луковице с разных позиций: экспрессия Ki-67 свидетельствовала об общей пролиферативной активности, экспрессия нестина - о начальных стадиях дифференцировки прогениторных клеток, DCX маркировал клетки, выбравшие путь нейрональной дифференцировки, n-NOS-активность отражала возрастные особенности высокоспециализированной субпопуляции нейронов. В данной главе автором убедительно показано, что постнатальный онтогенез обонятельной луковицы у крыс линии Вистар сопровождается фазными изменениями толщины слоев, которые, в свою очередь, коррелируют со снижением активности нейрогенеза. Также представлены интересные данные о развитии выраженного компенсаторного процесса, проявляющегося длительной активизацией канонических стволовых ниш и герминативной зоны обонятельной луковицы, при введении капсаицина. Данные о нейростимуляции путем введения нейропептида ТКPRPGP также представляют определенный интерес, хотя в интерпретации автора по своему эффекту на нейрогенез явно проигрывает эффектам, возникающим в обонятельной луковице при токсическом воздействии.

Глава 4 посвящена обсуждению результатов исследования. На 11 страницах машинописного текста автором выполнен анализ собственных данных и проведено сопоставление полученных результатов с имеющимися в литературе сведениями, что позволило сформулировать положения,

выносимые на защиту и выводы. В заключении главы автор подводит итоги диссертационного исследования и обозначает дальнейшие перспективы в разработке данного направления.

Полученные результаты позволили автору сформулировать 11 выводов, которые соответствуют цели и задачам исследования.

Автореферат соответствует материалам диссертации и полностью отражает ее содержание.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 27 научных работ, из них 6 опубликованы в журналах, включенных в перечень Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и рекомендуемых для публикации материалов диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, 1 статья в библиографической базе SCOPUS, а также 1 патент РФ на изобретение.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию работы Варенцова В.Е. нет, но есть пожелания и вопросы, на которые хотелось бы услышать мнение соискателя. В целом положительно характеризуя работу, нельзя не отметить наличие в тексте опечаток, терминологических неточностей и сленговых выражений, которых в диссертационном исследовании следует избегать. Кроме того, не было необходимости в таком количестве выводов. В некоторых из них отражены схожие данные, например, вывод №10 аккумулирует в себе суть данных, представленных в пунктах выводов, посвященных описанию процессов при введении ТКPRPGP и при токсическом воздействии.

Вместе с тем указанные замечания носят рекомендательный и редакционный характер, не уменьшая достоинства работы.

В качестве дискуссии, хотелось бы услышать мнение диссертанта по следующим вопросам:

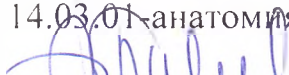
1. В своем исследовании вы утверждаете, что снижение активности нейрогенеза по даблкортин-иммунопозитивности в обонятельной луковице у крыс характерно исключительно для периода полового созревания. Как вы можете объяснить данный феномен, имеет ли он какой-либо биологический смысл?
2. В результате анализа представленных вами данных сложилось впечатление, что однократное нейротоксическое воздействие имеет более выраженное по времени и интенсивности влияние на процессы


нейрогенеза в обонятельной луковице подопытных животных. Верно ли это?

Данные вопросы не умаляют достоинства выполненного диссертационного исследования и носят дискуссионный характер.

Заключение

Таким образом, по своей актуальности, структуре, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости диссертация Варенцова Вячеслава Евгеньевича «Особенности активизации нейрогенеза в обонятельных луковицах крыс при экспериментальных воздействиях» 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), утвержденным приказом Сеченовского университета от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующий кафедрой анатомии
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук (03.03.04 - клеточная биология, цитология,
гистология, 14.03.01-анатомия человека),
доцент  – Павлов Артем Владимирович

Подпись д.м.н., доцента Павлова А.В. заверяю:
проректор по научной работе и инновационному развитию
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук,
профессор  Сучков Игорь Александрович

« 14 » сентября 2020 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9;
телефон +7 (4912) 971801; e-mail: rzgmu@rzgmu.ru