

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Ишуниной Татьяны Александровны на диссертационную работу Шороновой Анастасии Юрьевны «Структурная реорганизация неокортекса и гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы», представленной к защите в диссертационный совет 21.2.068.03 при ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки)

### Актуальность темы исследования

Тяжёлые черепно-мозговые травмы (ТЧМТ) чаще встречаются у молодых людей от 20 до 45 лет и представляют актуальную социально-экономическую проблему, являясь ведущей причиной смертности и одной из главных причин инвалидизации среди наиболее работоспособной части населения. Летальность от ТЧМТ составляет от 25 до 65%, а по некоторым данным 60-80%. При этом стойкая утрата трудоспособности может развиваться у 90% выживших пациентов. В результате сокращается доля молодых людей репродуктивного возраста, что отрицательно влияет на демографическую ситуацию, и снижается численность населения трудоспособного возраста, что влечёт за собой огромный экономический ущерб. После ТЧМТ практически никогда не наступает полного неврологического и нервно-психического восстановления. Напротив, в отделённом посттравматическом периоде состояние пациентов усугубляется развитием дополнительных последствий от нарушений сна и артериальной гипертензии до посттравматической эпилепсии и деменции и ускоренного старения головного мозга. В связи с этим, возникает необходимость детального изучения посттравматических морфофункциональных изменений в структурах головного мозга с целью определения конкретных мишеней для восстановительной терапии. Учитывая вышесказанное, актуальность диссертационного исследования Шороновой Анастасии Юрьевны не вызывает никаких сомнений.

### Научная новизна исследования

Научная новизна работы состоит в том, что проведено комплексное гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование динамики структурной реорганизации неокортекса и гиппокампа головного мозга крыс Wistar на 1, 3, 7, 14 и 30 сут после тяжелой черепно-мозговой травмы. С этой целью использовался новый способ моделирования черепно-мозговой травмы у крыс с применением установки с ударным

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России  
Отдел диссертационных советов  
Входящий № 38 15.01 2025

механизмом, позволяющим воспроизводить клиническую картину повреждения головного мозга тяжелой степени. Получены новые данные, систематизирующие особенности реорганизации цитоархитектоники двух ключевых структур головного мозга после ТЧМТ.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Результаты представленного диссертационного исследования в совокупности с данными литературы относительно продолговатого мозга формируют целостное представление о динамике нейроморфологических изменений в головном мозге крыс после ТЧМТ. Автором успешно апробирована экспериментальная модель ТЧМТ для дальнейших испытаний фармакологических препаратов и прочих способов восстановления функций головного мозга в посттравматическом периоде. Определены основные клеточные мишени (нейроны с обратимыми изменениями) для терапевтического воздействия на ранних сроках после ТЧМТ во избежание гибели значительной популяции пирамидных нейронов. Таким образом, представленные в работе данные могут быть использованы не только в образовательном процессе медицинских и биологических вузов для ознакомления с реакцией нервной ткани на повреждение, но и в нейрохирургии и нейротравматологии для разработки способов лечения пациентов с ТЧМТ.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений и выводов, изложенных в диссертации, обусловлены достаточным объемом экспериментального материала, комплексным методологическим подходом с применением современных гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования и корректной статистической обработкой полученных данных, что позволяет говорить о достоверности результатов проведенного исследования и их правильной интерпретации, не противоречащей ведущим концепциям научной литературы по изучаемой проблеме.

### **Объем и структура диссертации**

Структура диссертационной работы построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, логично построена, в достаточной степени иллюстрирована таблицами и рисунками высокого качества (11 таблиц и 48 рисунков), которые правильно составлены и способствуют пониманию содержания работы. Библиографический список содержит 229 литературных источников, из которых 53 отечественных и 176 зарубежных.

Во введении обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, раскрыта научная новизна, представлены теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, отражено личное участие автора, изложены данные об апробации работы, внедрении результатов исследования и публикациях по теме диссертации.

В «Обзоре литературы» представлена подробная характеристика цитоархитектонических особенностей коры головного мозга и гиппокампа с детальной информацией о каждой из известных разновидностей нейронов, приведено описание профилей нейропластичности, отмечено значение нейрогенеза и синаптической пластичности в реорганизации нейронных сетей после физического и ишемического повреждения нервной ткани, отражены достоинства и недостатки различных экспериментальных моделей черепно-мозговой травмы с обоснованием целесообразности применения собственного запатентованного способа с использованием устройства, основанного на передаче кинетической энергии падающего груза, приводящего к дозированному повреждению головного мозга без образования дополнительных повреждений, рассмотрены современные аспекты патоморфогенеза травматических повреждений головного мозга.

В главе «Материалы и методы исследования» представлена схема дизайна эксперимента, полностью соответствующая принципам доказательной медицины. Приведено описание экспериментальных групп, нового способа моделирования ТЧМТ, а также гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования. Важным достоинством работы является грамотный выбор комплекса методик, позволяющих представить целостную картину нейроморфологических изменений и связь между ними. Так, дифференцировка нейронов и глиальных клеток осуществлялась не только на основе классического окрашивания тионином, но и с помощью иммуногистохимических маркёров, NSE – для нейронов, GFAP – для астроцитов, IBA1 – для микроглиальных клеток. Динамику синаптических связей отслеживали по экспрессии синаптофизина. Более того, автором проводилось изучение и ангиоархитектоники, позволившее при дальнейшей интерпретации данных выделить причинно-следственные патогенетические связи. При этом проводился тщательный контроль всех проводимых манипуляций (например, уровня гистологических срезов, степени наполнения сосудов тушью). Несомненным преимуществом является сочетанный анализ нейроморфологических изменений с определением психоневрологического статуса экспериментальных животных, позволившего оценить состояние координации движений, равновесия, чувствительности и общего поведения животного после травмы. Методы статистической обработки обоснованы и корректны.

Глава «Собственные результаты исследования» содержит последовательное описание данных о структурной реорганизации нейро-глио-сосудистого комплекса неокортекса и гиппокампа белых крыс после ТЧМТ. Следует отметить значительный объём экспериментальной работы и внимательное отношение к морфологической идентификации нейронов и их тщательную категоризацию. Оценку посттравматических изменений облегчают качественно выполненные графики и микрофотографии. Проведен подробный корреляционный анализ между различными показателями. Основными изменениями являются уменьшение общей численной плотности пирамидных нейронов в СМК, и ещё в большей степени, в гиппокампе. Причём, в СМК это происходит главным образом за счёт нормохромных нейронов, количество которых снижается на 70-80%. Интересны данные о неодинаковом соотношении необратимо изменённых (гиперхромные сморщенные ГСН) и обратимо изменённых (гиперхромные несморщенные ГНН) нейронов в СМК. В частности, ГНН демонстрируют более выраженную динамику. Их число к 3-м суткам повышается в 15-30 раз, тогда как количество ГСН возрастает через сутки в 6-10 раз. При этом и к концу эксперимента число ГНН в СМК повышено в более значительной степени, чем ГСН. Гибель нейронов в СМК сопровождалась уменьшением числа олигодендроцитов, волнообразной реакцией астроцитов и микроглиоцитов, резким снижением плотности синаптических терминалей. Показано уменьшение общей численной плотности проходимых микрососудов при увеличении их площади, что, по мнению автора, свидетельствует об их расширении. Более деструктивные изменения отмечены в III-м по сравнению с V-м слоем и ассоциировались со снижением проходимости сосудов микроциркуляторного русла. Следует отметить, что практически ни один из изученных автором показателей не восстанавливался к концу эксперимента.

В главе «Обсуждение полученных результатов» данные диссертационного исследования подробно рассматриваются в контексте современных концепций научной литературы. Интересно, что селективность повреждения слоёв сенсомоторной коры (СМК) и зон гиппокампа объясняется, в том числе, с позиции особенностей их citoархитектонической организации и эмбрионального развития. Автор совершенно справедливо делает вывод о ведущем значении ишемии и гипоксии вследствие повреждений микроциркуляторного русла и нарушения кровоснабжения в патоморфогенезе реорганизации нейро-глио-сосудистого комплекса при ТЧМТ, и, что очень ценно, приводит сравнительный анализ сходства и различий посттравматических и постишемических (после экспериментальной окклюзии общих сонных артерий) нейроморфологических изменений в коре и гиппокампе. При этом основное отличие, по мнению автора, заключается в развитии сильного воспалительного ответа и более выраженного отёка при ТЧМТ, что не характерно

для модели с двусторонней окклюзией общих сонных артерий. Помимо рассмотрения патогенеза ТЧМТ в этой главе определены перспективные направления для разработки методов лечения.

Выводы логично завершают научное исследование, соответствуют цели и поставленным задачам.

Работа соответствует специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки).

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В тексте иногда встречаются опечатки, стилистические ошибки и повторы. Однако, это не влияет на общее положительное впечатление от работы. Она представляет несомненный научный интерес. При её прочтении возникло несколько вопросов.

- 1) На фоне различий реакции астроцитов в III и V слоях СМК и волнообразного характера их изменений можно ли говорить о вовлечении разных популяций астроцитов A1 и A2?
- 2) Почему на 30-е сутки плотность астроцитов в СМК, активно участвующих в нейровоспалении, значимо ниже контрольных значений? Астроциты погибают? Тогда как объяснить увеличение фрактальной размерности по GFAP на 30-е сутки эксперимента?
- 3) Может ли более выраженное снижение общей численной плотности пирамидных нейронов в СМК на 7-30 сутки по сравнению с 1-3 сутками свидетельствовать о наличии «окна возможностей» для воздействия на обратимо измененные нейроны (к ним Вы отнесли гиперхромные несморщенные), число которых резко (в 15-30 раз) возрастает на 1-3 сутки эксперимента?
- 4) Из приведенных Вами данных следует, что в СМК снижение численности пирамидных нейронов происходит в большей степени за счёт нормохромных клеток. В гиппокампе наблюдается постепенное сокращение численности пирамидных нейронов на всех сроках эксперимента. Однако, столь значительного, как в СМК, снижения нормохромных нейронов не происходит. За счёт какой группы клеток сокращается общая численность пирамидных нейронов в гиппокампе?
- 5) Если сравнивать гиппокамп и СМК, какая структура страдает больше после ТЧМТ? По реакции глиальных клеток, отражающих интенсивность нейровоспаления, – СМК. Тогда почему в гиппокампе к концу исследования общая плотность пирамидных нейронов снижена более значительно (41-43%), чем в СМК (32-18%)?

- 6) Почему на 30-е сутки эксперимента вместо дальнейшего снижения к контрольным значениям доля IBA1 позитивных микроглиоцитов в СМК демонстрирует небольшой скачок «вверх»?
- 7) На рис. 29 NSE позитивный материал концентрируется в области плазматической мембраны перикариона и нейропиля. Как Вы думаете, с чем связано более интенсивное типирование белком NSE структур нейропиля? Есть причина, по которой он перемещается в отростки из перикариона? Учитывая роль NSE в нейровоспалении, изучали ли Вы корреляционные связи между числом NSE-положительных нейронов и IBA1 положительных микроглиоцитов?
- 8) По мнению некоторых авторов гидропическая дистрофия нейронов в большинстве случаев завершается их гибелью. Вы пишете, что «в посттравматическом периоде на протяжении всех сроков исследования в СМК большинство нейронов характеризовалось гидропической дистрофией, как в нейропиле, так и вокруг самого нейрона и его ядра, и что «это свидетельствует о протекании тинкториальных, гидропических, дегидратационных и некробиотических процессах в СМК». Однако позже в выводе №7 гидропическая дистрофия упоминается в контексте компенсаторно-восстановительной реорганизации. «В промежуточном периоде ... сохранялся дефицит межнейронных синапсов ... и отмечалась гидропическая дистрофия, это свидетельствовало о компенсаторно-восстановительной реорганизация нейронных сетей гиппокампа...». Поясните, пожалуйста, что Вы имеете в виду. В какую категорию следует поместить нейроны с гидропической дистрофией (обратимо или необратимо изменённых)?

Указанные вопросы и замечания не снижают значимости полученных результатов, не ставят под сомнение обоснованность основных положений и выводов и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Шороновой Анастасии Юрьевны на тему: «Структурная реорганизация неокортекса и гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение значимой задачи по выявлению структурной реорганизации нейро-глио-сосудистого комплекса неокортекса и гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, имеющей существенное значение для нейроморфологии и регенеративной биомедицины.

По своей актуальности, методическому обеспечению, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, диссертация Шороновой Анастасии Юрьевны полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым ВАК Минобрнауки РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

**Официальный оппонент:**

Профессор кафедры гистологии,  
эмбриологии, цитологии  
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

д-р мед. наук, доцент

*09.01.2025*

Татьяна Александровна Ишунина

Подпись Т.А. Ишуниной заверяю  
Начальник управления персоналом и  
кадровой работы

*08.01.2025*



Наталья Николаевна Сорокина

Данные об авторе отзыва: Ишунина Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 305041, г. Курск, ул. Маркса, 3; тел.: 8 (4712) 58-81-32; сайт организации: <https://kurskmed.com>; e-mail: [kurskmed@mail.ru](mailto:kurskmed@mail.ru); e-mail оппонента: [Ishunina TA@kursksmu.net](mailto:Ishunina TA@kursksmu.net)