

ОТЗЫВ

доктора биологических наук Сорокиной Ирины Васильевны
(НИОХ СО РАН, +7(383)330-88-50, benzol@nioch.nsc.ru, <http://web.nioch.nsc.ru>)
на автореферат диссертации Кисель Алены Андреевны на тему
«Демиелинизация в условиях ишемии головного мозга у крыс»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.01 – Физиология

Циркуляторные расстройства мозгового кровообращения являются одним из наиболее распространенных патологических синдромов у человека, а при остром течении - одной из ведущих причин инвалидизации и смертности. Согласно международным эпидемиологическим исследованиям, в мире от инсульта ежегодно умирают 4,7 млн человек, при этом среди всех видов инсульта преобладающей формой является ишемическое поражение мозга.

Исследованию патогенетических механизмов острой ишемии головного мозга и возможных путей реабилитации постинсультных повреждений посвящено много работ в области экспериментальной и клинической медицины. Однако до сих пор остается неполной картина патологических и компенсаторных процессов, происходящих в различных клеточных популяциях нервной ткани, как во время инсульта, так и в отдаленные сроки. В частности за рамками внимания исследователей остается проблема аксональной демиелинизации при ишемии мозга, а также изучение ее динамики и способов коррекции, направленной на восстановление проводимости в ЦНС. Недостаточная разработанность этих вопросов отчасти связана с отсутствием в клинике чувствительных неинвазивных методов оценки де- и ремиелинизации.

В свете этих проблем, диссертационное исследование Алены Андреевны Кисель, посвященное углубленному изучению процессов демиелинизации в моделях ишемического повреждения головного мозга крыс, является, безусловно, актуальным и создает основу для решения в дальнейшем прикладных задач в области терапии и реабилитации больных. Важным аспектом работы является валидация нового чувствительного метода количественного анализа миелина в условиях ишемии мозга, на основе картирования макромолекулярной протонной фракции (MPF).

Методологически работа А. А. Кисель основана на анализе изменений количества миелина и состояния клеточных популяций в очаге поражения в

динамике развития ишемического повреждения мозга. Для решения поставленных целей и задач, автор использовала две экспериментальные модели ишемии (соответственно тотальной и локальной) с различной тяжестью поражения мозга, а также современные методы гистологического и МРТ-анализа нервной ткани. Эти методы включали иммуногистохимическое окрашивание на белки, специфичные к миелину (MBP), к зрелым нейронам (NeuN) и микроглии (Ibal). Дополнительно в модели локальной ишемии при исследовании очага поражения применялись методы МРТ, основанные на картировании параметров T_1 , T_2 , PD, ADC и MPF. В случае картирования миелина методом MPF автором проводился корреляционный анализ связей с гистологическими параметрами. Таким образом, методы и подходы, использованные в работе, соответствуют современному уровню исследований и позволяют получить объективные экспериментальные данные.

Несомненным достоинством работы является тщательная проработка дизайна экспериментов (предварительное МРТ-тестирование мозга экспериментальных животных, наличие ложно оперированного контроля, учет межполушарных различий в показателях), а также квалифицированный статистический анализ данных. Последний включал как однофакторный дисперсионный анализ с post-hoc анализом попарных различий, так и множественные регрессионные модели для выбора оптимальных МРТ-параметров.

Основные результаты диссертационной работы касаются детального исследования процесса демиелинизации гиппокампа в условиях тотальной и локальной ишемии мозга и соотнесения динамики этого процесса с состоянием нейронального и глиального компонентов. Автором установлено, что при локальной ишемии наблюдается более выраженная демиелинизация с последующим неравномерным распределением миелина в слоях гиппокампа. Напротив, при тотальной ишемии демиелинизирующее воздействие было менее выраженным без заметной динамики в течение срока наблюдений. Некоторая противоречивость результатов, очевидно связанная с тем, что опыты проводились на разных линиях животных и в различных экспериментальных условиях, не влияла на характер ишемических повреждений в обеих моделях, изменялась лишь их выраженность.

Важнейшим результатом работы А.А. Кисель является исследование

динамики демиелинизации новым методом картирования MRF, выполненное в условиях локальной ишемии мозга. Показано, что очаг ишемии визуализируется на картах MRF как зона гипоинтенсивности, которая увеличивается с течением времени. Однако, к 30-м суткам в очаге выделяются зоны как гипо-, так и гиперинтенсивности, которые можно отнести соответственно к продолжающейся демиелинизации и возникающей ремиелинизации. Установлено, что параметр MRF имеет сильную корреляционную связь с содержанием миелина, определяемого с помощью гистологического и иммуногистохимического методов. Гистологическая валидация метода, выполненная автором, показывает, что MRF может рассматриваться как чувствительный метод определения потерь и восстановления миелина при инсульте, что дает основания для включения данного метода в стандартный протокол клинических исследований.

В связи с вышесказанным, диссертационная работа А.А. Кисель является актуальным и современным исследованием физиологических процессов в мозге при ишемии. Результаты работы представляют научный и практический интерес для сопредельных областей знания (медицины, фармакологии) в поиске новых методов оценки состояния ЦНС при ишемическом инсульте и его фармакологической коррекции.

Поставленная автором цель достигнута решением нескольких задач теоретического и практического характера. Установлена динамика и локализация потерь миелина в условиях тотальной и локальной ишемии. При исследовании характера демиелинизации выявлена корреляция между данными, полученными методом MRF-картирования и результатами гистохимического и гистологического анализа. Экспериментально обоснована высокая специфичность MRF для оценки содержания миелина в мозге по сравнению с другими магнито-резонансными параметрами, включая T_1 и T_2 визуализацию.

Выводы и результаты, полученные в ходе исследования, полностью соответствуют заявленным задачам диссертационной работы и являются достоверными. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, получено 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных.

Принципиальных замечаний к работе нет, однако вызывает вопросы недостаточно внятное изложение данных, описывающих неврологический дефицит у животных в каждой модели ишемии. Приведенная автором оценка состояния животных в баллах, выполненная на основании критериев, взятых из двух различных литературных источников, не позволяет при знакомстве с авторефератом, корректно сопоставить симптомы поражения ЦНС с результатами гистологического анализа ткани мозга. Хотелось бы услышать комментарии по данному вопросу.

Заключение. Анализ автореферата показал, что диссертационная работа Алены Андреевны Кисель «Демиелинизация в условиях ишемии головного мозга у крыс» представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, выполненное по актуальной теме в области физиологии, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – А. А. Кисель - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Доктор биологических наук, по специальности
03.03.04-клеточная биология, цитология, гистология,
14.03.06-фармакология, клиническая фармакология;
ведущий научный сотрудник лаборатории
фармакологических исследований ФГБУН
Новосибирский институт органической химии
им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (НИОХ СО РАН)
Адрес: 630090, г. Новосибирск,
проспект Академика Лаврентьева, д.9
benzol@nioch.nsc.ru
<http://web.nioch.nsc.ru/>

 Сорокина И. В.

Подпись Сорокиной И.В. заверяю
Начальник Отдела кадров НИОХ СО РАН

Афлятунова И.А.

«18» мая 2019 г.

