

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертационную работу **О.В. Лазинской** «Морфологические особенности развития коры головного мозга крыс при экспериментальной акселерации», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

**Актуальность проблемы.** Диссертационное исследование О.В. Лазинской посвящено важной и активно разрабатываемой медико-биологической проблеме – особенностям развития головного мозга при акселерации. Понятие акселерации, как ускорения возрастного развития путём сдвига морфогенеза на ранние стадии онтогенеза, появилось в 20 веке в экономически развитых странах. Вне зависимости от причин вызывающих это явление, закономерен вопрос о корреляции структурных показателей центральной нервной системы (ЦНС) с опережающим развитием тела при акселерации. В настоящее время предложено несколько теорий, объясняющих эту взаимосвязь. Однако, несмотря на длительный период исследований, однозначных ответов на вопросы о зависимости ускоренного созревания сомы и особенностей поведения, которое обусловлено, в первую очередь, развитием коры головного мозга, нет. Модельные исследования привнесли многое в решение этой проблемы, но поставили новые вопросы и открыли простор для дальнейших экспериментов. Ранее в лаборатории кафедры гистологии ДВГМУ исследовались морфологические особенности головного мозга крыс, выращенных в искусственно уменьшенных пометах (5-7 животных в помете) и имевших характерные признаки акселерации. Рецензируемая диссертация О.В. Лазинской является продолжением этих исследований. В ней решаются вопросы об отношениях масс тела (один из признаков акселерации) и мозга, о морфометрических и гистохимических особенностях коры полушарий в период ускоренного развития ЦНС, о влиянии стероидного анаболического препарата ретаболила, одного из возможных регуляторов акселерации, на процессы постнатального развития коры.

**Научная новизна исследования.** В диссертации О.В. Лазинской впервые дана характеристика гравиметрических, морфометрических, гистохимических показателей, отражающих особенности развития головного мозга крыс в интервале от 5- до 60-суточного возраста при экспериментальной акселерации, вызванной значительным уменьшением численности пометов. Выявленные отличия у крыс акселератов проявляются увеличением абсолютной и уменьшением относительной массы мозга, увеличением массы полушарий, толщины коры в собственно теменной и переднетеменной

долях, уменьшением численной плотности нейронов слоёв II и V, увеличением размеров ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов неокортекса и гиппокампа, а также – увеличенной концентрацией РНК и повышенной активностью НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы. Впервые дана морфометрическая и гистохимическая характеристика показателей развития головного мозга 14-, 30- и 60-суточных крыс-акселератов при введении ретаболила. Установлено, что его введение стимулирует увеличение толщины коры, снижение плотности и увеличение размеров нейронов неокортекса и гиппокампа, снижение интенсивности свободнорадикального окисления липидов в мозге 14-, 30- и 60-суточных животных. Введение препарата приводит к повышению концентрации РНК, активности НАДН-д, НАДФН-д и  $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы в цитоплазме нейронов, причем эти изменения выявляются не во всех возрастных группах и зависят от пола животных.

**Теоретическая и практическая значимость работы** заключается в том, что полученные данные об особенностях организации мозга при акселерации расширяют представления о факторах, регулирующих развитие ЦНС. Установлены закономерности обще-соматического развития с одной стороны, и развития мозга, с другой. Результаты диссертации вносят вклад в понимание распространенного явления – акселерации и представляют интерес не только для нейробиологов, но и для практикующих педиатров, психологов, педагогов, которые в ходе своей профессиональной деятельности сталкиваются с детьми, отличающимися темпами онтогенеза.

**Положения, выносимые на защиту**, обоснованы, их суть сводится к следующему:

1. Акселерация крыс, обусловленная значительным уменьшением численности пометов, является фактором, приводящим к ускоренному развитию головного мозга.
2. Отличия мозга при акселерации зависят от периода онтогенеза, и максимально выражены в неонатальном и молочном периодах.
3. Введение ретаболила не влияет на темпы роста массы головного мозга 14-, 30-, 60-суточных крыс, но отражается на морфометрических и гистохимических показателях развития нейронов неокортекса и гиппокампа.

**Общая характеристика работы.** Диссертация изложена на 205 страницах и содержит 16 таблиц, 18 рисунков. Список литературы включает 308 источников, в том числе 144 отечественных и 169 иностранных. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав собственных данных, обсуждения, выводов и списка литературы. Все микрофотографии удовлетворительного качества, иллюстрируют достоверность полученных результатов. Результаты статистической обработки данных убедительны. Работа написана хорошим литературным языком.

**Во введении** обоснована актуальность темы, четко формулируются цель и задачи исследования, аргументировано доказывается новизна исследования, его теоретическая и практическая значимость.

**Глава «Обзор литературы»** состоит из трех разделов. Автор тщательно анализирует данные литературы о распространенности и механизмах акселерации, роли стероидных гормонов в регуляции развития головного мозга и морфологических показателях его постнатального онтогенеза. Несмотря на обстоятельный анализ литературы по указанным проблемам, в главе явно не хватает раздела по пренатальному развитию коры полушарий мозга. Такой раздел был бы логичен в связи с тем, что научная лаборатория, в которой выполнялась диссертация, исследовала эффект акселерации путем снижения численности эмбрионов. Кроме того, эти сведения могли бы быть использованы при обсуждении результатов исследования. Не могу согласиться и с интерпретацией данных по одной из статей – это исследование Balter М. На странице 22 Ольга Владимировна констатирует: *«В исследованиях, проведенных М. Балтером (Balter, 2015), головной мозг детей и взрослых в возрасте от 3 до 20 лет, подвергался сканированию с помощью МРТ»*. На самом деле в этой статье только упоминаются результаты анализа МРТ мозга детей из семей с разным социо-экономическим статусом, но сам автор такие исследования не проводил. Ошибочно и утверждение на основе упомянутой статьи: *«Исследовались площадь поверхности коры мозга, ее наружного слоя, где происходит когнитивная обработка информации, а также чтение, речь»*. В разделе «Влияние анаболических препаратов на функциональные и морфологические показатели состояния головного мозга» соискатель приводит сведения о влиянии ретаболила на память, которые противоречивы по данным разных авторов. Несомненно, это только подкрепляет необходимость провести такие эксперименты – одна из задач диссертации, жаль, что в обзоре литературы автор не попыталась критически проанализировать эти результаты. На странице 30 обзора допущена ошибка – толщина коры больше на поверхности извилин, а не в бороздах, как утверждает автор (например, цитированная в дис. работа Fischl, Anders, 2000 «Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images»).

**Несмотря на высказанные замечания и пожелания обзор литературы отличается тщательностью анализа, дает полное представление о современном состоянии изучаемой проблемы, свидетельствует о наличии дискуссионных и недостаточно исследованных вопросов, которые весомо обосновывают цель и задачи рецензируемой диссертации.**

**В главе « Материалы и методы исследования»** охарактеризован весьма солидный материал, использованный в рецензируемой диссертации. О.В. Лазинской были применены общегистологические, гистохимические, в том числе гистоэнзимологические методы исследования, результаты которых подтверждены компьютерной морфометрией и цитоспектрофотометрией. Исследование толщины коры полушарий мозга, плотноклеточности, площади сечения сомы, ядер и ядрышек нейронов неокортекса и гиппокампа осуществлялось с помощью аппарата «Мекос». Гистохимическое исследование включало в себя определение концентрации РНК в цитоплазме пирамидных нейронов неокортекса и поля СА1 гиппокампа, активности НАДН-дегидрогеназы, отражающей активность внутримитохондриальных окислительных процессов и НАДФН-дегидрогеназы, отражающей активность внемитохондриальных окислительных процессов, активности  $3\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы, как маркера клеток, синтезирующих нейростероиды. Для выявления концентрации липидов исследовали криостатные срезы окрашенные суданом черным. Интенсивность всех гистохимических реакций определяли цитоспектрофотометрически при длине волны, 550 и 600 нм. Биохимическое исследование включало в себя исследование методом хемилюминесценции показателей свободнорадикального окисления в коре лобной доли. Для изучения поведения 25-суточных животных исследовали в приподнятом крестообразном лабиринте. Полученные данные были обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Расчеты были проведены: 1) «суммарно» у самцов и самок; 2) «раздельно», с учетом гендерной принадлежности животных.

**В главе «Собственные данные»** представлены результаты исключительно трудоемких исследований. Следует поставить в заслугу автору логичную группировку фактических данных в два больших раздела с разбиением на более мелкие, посвященные описанию и анализу результатов исследований, и заключение. **Заслуживают высокой оценки комплексное исследование морфологии, биохимии коры мозга и поведения животных, прослеженные на протяжении 60 дней при сравнении групп контроля и эксперимента.**

**Замечание:** Рекомендуется предварять микрофотографии с изменёнными нейронами разных слоёв и областей коры обзорными изображениями срезов соответствующих уровней мозга, которые позволили бы убедительно продемонстрировать локализацию области интереса. В рецензируемой диссертации так сделано лишь однажды, см. рис. 3.

Введение ретаболила, согласно полученным результатам, не оказало влияния на темпы роста мозга крыс. Эффекты препарата были истолкованы автором как ускоряющие

темпы созревания коры. Это заключение аргументировано тщательным и критичным анализом экспериментальных результатов. Представленные данные свидетельствуют также о том, что последствия введения ретаболила зависят от: 1) возраста животных на момент введения препарата; 2) функциональной специализации зоны коры; 3) слоя неокортекса; 4) гендерной принадлежности животного. **Полученные результаты трудно переоценить, так как они расширяют представления о механизмах регуляции развития головного мозга стероидными соединениями и их дифференцированном влиянии на отделы и слои коры мозга.**

**Вопрос:** не ослаблялось ли развитие акселерации и, следовательно, подлежащие учёту эффекты влияния ретаболила, большей численностью групп (6 крыс), по сравнению с теми, у которых исследовали только морфологические и биохимические проявления акселерации (4 крысы)?

**В главе «Обсуждение»** в сжатом виде дается оценка наиболее значимых результатов работы, которые критически оцениваются и обсуждаются в сравнении с данными литературы. **Такое обсуждение позволило автору сформулировать 6 выводов, отличающихся приоритетностью и новизной. Выводы касаются базисных проблем нейробиологии, конкретны и целиком основаны на результатах собственных исследований.**

Тем не менее, обсуждение данных об относительной массе мозга вызывает **вопросы:** Ольга Владимировна утверждает «.....значительно уменьшенная у них (экспериментальных животных) *относительная масса мозга приводит к повышению «удельной нагрузки» на нейроны, связанной с регуляцией им органов, имеющих при акселерации увеличенную массу»* с.164-165. Как известно, рост костно-мышечной массы сопряжен с увеличением толщины и длины миелинизированных аксонов в составе проводящих трактов ЦНС и большим размером нейронов, иницирующих эти тракты, что также подтверждают результаты, полученные диссертантом. Можно ли допустить, что относительное снижение массы мозга у экспериментальных животных обусловлено увеличением массы тела за счёт накопления жира? Известны ли диссертанту исследования по сравнительному составу тела у животных при акселерации в разные периоды онтогенеза?

**Автореферат полностью отражает содержание диссертации.**

Диссертационная работа «Морфологические особенности развития коры головного мозга крыс при экспериментальной акселерации» соответствует основным квалификационным критериям (пункт 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее

автор, Лазинская Ольга Владимировна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент  
доктор биологических наук, доцент,  
профессор кафедры цитологии и гистологии  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения «Санкт-Петербургский  
государственный университет»  
199034, Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9,  
Телефон 8(812) 328-96-87  
Электронная почта: [st002317@spbu.ru](mailto:st002317@spbu.ru),  
[krasnelena@gmail.com](mailto:krasnelena@gmail.com)

Подпись Краснощековой Е.И. удостоверяю  
«\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2017 г.

  
Краснощекова Елена Ивановна

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

ЗАВЕРЯЮ



