

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Манжуло Ольги Сергеевны «Нейро- и глиотропная активность докозагексаеновой кислоты при моделировании компрессионной травмы спинного мозга у крыс», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Актуальность темы диссертационной работы. Травмы спинного мозга широко распространены в обществе и являются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины и нейробиологии. Повреждения спинного мозга влекут за собой тяжелые последствия и сопровождаются высокой частотой летальности, приводя к пожизненной инвалидности и нуждаются в многолетней реабилитации. Данная патология приводит к гибели нейронов и глиальных клеток, а также к разрушению восходящих и нисходящих спинномозговых трактов, сопровождаясь развитием не только моторного и вегетативного дефицита в нижних сегментах спинного мозга, но и возникновением болевых синдромов. Морфологическую и нейрохимическую основу данных процессов составляют базовые патофизиологические механизмы (эксайтотоксичность, воспаление, апоптоз и некроз). Эти события усиливают действие первичной травмы и формируют комплекс взаимосвязанных и растянутых во времени процессов, ведущих к необратимым изменениям в мозге. Комплексное воздействие на данные патологические процессы может служить залогом успешной нейропротективной терапии. При этом, несмотря на наличие значительного числа исследований, которые определяют патофизиологию травм спинного мозга, неудовлетворительные результаты в лечении пациентов требуют дополнительных исследований в данной области.

Существующие фармакологические препараты, очень часто не способны привести к полному восстановлению пациентов с травмой спинного мозга, поэтому во всем мире растет потребность в альтернативных

препаратах, с эффективными и безопасными анальгетическими, нейропротекторными и противоспалительными свойствами, отсутствием токсичности и доказанной эффективностью при различных нейротравмах. Многообещающим направлением поиска терапевтических средств является использование природных соединений, полученных из морских организмов. В этой связи, перспективными соединениями являются препараты полиненасыщенных жирных кислот, в частности докозагексаеновая кислота (ДГК), действие которой связано не только с регуляцией воспалительного процесса, но и с восстановлением структурной и метаболической целостности нервной ткани после повреждения.

Основным достоинством представленной работы является комплексный морфофункциональный подход к решению поставленных задач, а также использование препарата ДГК, полученного на базе ННЦМБ ДВО РАН.

Научная новизна. В диссертационной работе представлена комплексная характеристика нейро- и глиотропной активности ДГК, способствующей восстановлению моторных и вегетативных функций у крыс с травмой спинного мозга. Показано, что нейропротекторное действие ДГК осуществляется за счет активации процессов пролиферации и ремиелинизации. Впервые установлено, что терапия ДГК приводит к увеличению активности астроцитов с одновременным усилением экспрессии белка виментина, что способствует восстановлению нервных волокон в области повреждения. В работе дана комплексная оценка активности микроглии/макрофагов и ее отдельных фенотипов на этапах острого и хронического воспаления при компрессионной травме спинного мозга. Установлено, что ДГК снижает уровень экспрессии провоспалительной микроглии/макрофагов с синхронным увеличением активности противовоспалительных макрофагов. Применение ДГК оказывает комплексное действие на течение посттравматического процесса, приводя в

конечном итоге к более успешному восстановлению двигательной активности животных с травмой спинного мозга (ТСМ).

Структура и содержание работы. Диссертационная работа Манжуло Ольги Сергеевны построена по классическому типу и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты и обсуждение, заключение и выводы. Работа изложена на 137 страницах, список литературы содержит 289 наименований, 6 из которых на русском языке, 283 – на английском. Диссертация проиллюстрирована 22 рисунками и 2 таблицами.

Во введении подробно освещены актуальность и научная новизна работы, сформулированы цели и задачи исследования, перечислены положения, выносимые на защиту, приведен список публикаций автора в рецензируемых научных журналах и сборниках материалов конференций. Положения, выносимые на защиту, соответствуют полученным результатам.

Обзор литературы построен логично и содержит основную информацию, необходимую для понимания и интерпретации данных. В нем дана комплексная характеристика этапов патологического процесса после травмы спинного мозга, рассматриваются клеточные и молекулярные механизмы репарации спинного мозга, описаны наиболее актуальные методы и подходы к терапии ТСМ, а также представлены современные данные о роли полиненасыщенных жирных кислот в центральной нервной системе в норме и при различных нейропатологиях.

В работе использован широкий спектр современных методов исследования, а именно: экспериментальное моделирование компрессионной травмы спинного мозга, физиологические и гистологические методы исследования, методы имmunогистохимического выявления нейрональных и глиальных маркеров, методы получения первичных культур глиоцитов и иммуноферментный анализ. Основная часть работы выполнена с применением методов световой и флуоресцентной микроскопии.

Результаты работы совмещены с обсуждением и разделены на три основные главы:

В первой главе автор анализирует восстановление двигательной активности (с помощью общепринятой шкалы (BBB) для оценки моторной дисфункции) и вегетативных функций на разных этапах восстановления после ТСМ. Оценка локомоторной активности показала, что у крыс с травмой при терапии ДГК формируется не только более раннее (2я неделя), но и более полное восстановление функций нижних конечностей.

Во второй главе дана общая морфологическая характеристика области повреждения, а также оценивается степень сохранности миелиновых оболочек аксонов и нисходящих нервных волокон в острый и хронический посттравматический период. Нейропротективная активность ДГК осуществляется за счет запуска процессов ремиелинизации, усиления васкуляризации рубца, а также сохранения целостности и восстановления катехоламинергических нервных волокон.

В третьей главе дана обширная характеристика пролиферативной активности ДГК, с помощью маркера iba-1 показано участие микроглии/макрофагов в воспалительных реакциях, а также влияние ДГК на распределение макрофагов в сторону противовоспалительного типа. Показана динамика астроцитарной реакции, а также экспрессии виментина на разных этапах посттравматического процесса. На культуре клеток астроглии и микроглии продемонстрирован антиоксидантный потенциал ДГК (препарат усиливает активность фермента супероксиддисмутазы), а также усиление экспрессии виментина.

Автором представлено заключение, обобщающее весь экспериментальный материал, а также сделаны обоснованные выводы, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, представленный в автореферате иллюстративный материал хорошего качества. Фактически все научные результаты, включенные в работу,

опубликованы в рецензируемых зарубежных и российских профильных научных журналах и доложены на научных конференциях.

Работа в целом оставляет благоприятное впечатление. Дизайн исследования тщательно продуман автором, а при его реализации получены весьма интересные результаты, имеющие значимую теоретическую и практическую ценность. Вместе с тем, имеются несколько замечаний. В рукописи встречаются досадные опечатки и грамматические ошибки, которые необходимо исправить. Возникают также вопросы к формулировке некоторых выводов. Так, одним из существенных достижений диссертации является установленная автором гетерогенная реакция макрофагов M1- и M2-подтипов на введение ДГК. Однако в выводах этот факт никак не отмечен. Большинство выводов сформулированы на манер принципиальных положений и не отражают состояние конкретных исследованных маркеров. Следует подчеркнуть, что указанные замечания легко устранимы и не снижают уровень проведенного исследования.

Таким образом, диссертация Манжуло Ольги Сергеевны является самостоятельным, завершенным научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне и вносящим существенный вклад в понимание некоторых механизмов нейронального и глиального ответа на разных этапах патологического процесса после компрессионной травмы спинного мозга. Установленные клеточные механизмы реализации противовоспалительного и нейропротекторного действия ДГК могут служить основой для разработки комплексных подходов в терапии повреждения центральной нервной системы.

Работа Манжуло Ольги Сергеевна на тему: «Нейро- и глиотропная активность докозагексаеновой кислоты при моделировании компрессионной травмы спинного мозга у крыс» соответствует основным квалификационным критериям (пп. 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №

842), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Калиниченко Сергей Георгиевич,
профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Тихоокеанский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент

ОПП

/С.Г. Калиниченко

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология.

«24» сентября 2021 года

Подпись С.Г. Калиниченко заверяю:

Ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

ОПП /Е.В. Просекова



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный Медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России), 690002 Россия, Приморский край, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2, Телефон: (423)242-97-78, факс: (423) 245-17-19, сайт: <http://www.tgmu.ru>, e-mail: mail@tgmu.ru