

Отзыв

официального оппонента Екатерины Валентиновны Лопатиной на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Анастасии Владимировны Полозовой на тему «Морфоструктурные особенности и функциональное состояние эритроцитов при моделировании черепно-мозговой травмы и её экспериментальной коррекции» цитопротекторами», по специальности 1.5.5 — «Физиология человека и животных»

Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность работы А.В.Полозовой посвященной тщательному изучению механизмов развития посттравматических изменений структурно-функциональных и метаболических показателей эритроцитов, ангио- и цитоархитектоники головного мозга и их коррекции в раннем посттравматическом периоде ЧМТ не вызывает сомнений, поскольку имеет важное как научное, так и прикладное значение. Автор в своем исследовании формулирует подход, который постулирует важность предупреждения негативных последствий, провоцируемых ЧМТ, поскольку процессы вторичного повреждения мозга зачастую играют решающую роль в провокации тяжелых состояний пациентов. Учитывая сходство звеньев патогенеза ЧМТ и ишемических инсультов головного мозга, исследование А.В. Полозовой имеет серьезное теоретическое и прикладное значение.

Научная новизна

Впервые мембранные и метаболические показатели эритроцитов в посттравматический период ЧМТ и при её коррекции цитопротекторами исследованы при помощи комплекса методов, включая изучение фазово-интерференционных изображений. Автору удалось обнаружить прямую зависимость морфоструктурных показателей эритроцитов от их

функционального состояния при экспериментальной ЧМТ и действии цитопротекторов в посттравматический период.

Проведенные исследования показали, что увеличение фазовых характеристик эритроцитов основано на усилении процессов липопероксидации, снижении активности каталазы и содержания гемоглобина и коррелирует с уменьшением ЭФПЭ и усилением агрегации в посттравматическом периоде ЧМТ.

Нормализация морфоструктурных характеристик эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора, по мнению автора, связана с восстановлением окислительно-восстановительного баланса и повышением метаболического статуса эритроцитов.

В экспериментах *in vivo* и *in vitro* впервые удалось обнаружить прямое действие мексикора и цитофлавина на эритроциты и опосредованное влияние изучаемых агентов, проявляющееся в повышении энергетического потенциала клеток. Получены доказательства сохранения морфофункциональных показателей и энергетической стабильности эритроцитов при использовании мексикора и цитофлавина.

Автором установлено, что применение цитопротекторов стимулирует ограничение вторичных повреждений мозга за счет улучшения морфофункциональных характеристик эритроцитов в сочетании с восстановлением гемокоагуляции и микроциркуляции.

Теоретическая и практическая значимость

На примере модели ЧМТ А.В. Полозовой теоретически обоснован оригинальный подход, основанный на анализе нефиксированных эритроцитов методом фазово-интерференционной микроскопии. Использованный методический прием позволил визуализировать в динамике метаболические процессы в эритроцитах в условиях ЧМТ и действии цитопротекторов. Обнаружена зависимость морфометрических показателей фазово-интерференционных изображений эритроцитов от активности

метаболических и окислительных процессов в посттравматический период ЧМТ, что позволяет существенно дополнить и упростить способы клеточной диагностики функционального состояния эритроцитов.

На основе данных об изменении морфофункциональных показателей эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора в дальнейшем могут быть сформулированы клинические рекомендации существенно расширяющие сферу применения вышеуказанных препаратов.

Результаты работы могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций общего курса по физиологии человека и животных, и смежных дисциплин.

Структура работы.

Диссертация А.В. Полозовой построена по классическому образцу, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Работа изложена на 115 страницах, иллюстрирована 20 рисунками и 13 таблицами. Список цитируемой литературы содержит 179 источников.

Во введении автор раскрывает цель и задачи исследования, формулирует положения, выносимые на защиту. В Обзоре литературы приведены сведения, характеризующие морфологические, физиологические и биохимические особенности и реакции эритроцитов в норме и формировании ЧМТ. Глава Материалы и методы содержит описание объектов исследования и методических подходов, используемых автором в работе. Применение адекватных высокотехнологичных методов исследования позволило автору провести комплексный анализ морфофункционального состояния эритроцитов, микроциркуляции, гистологический анализ структур головного мозга и двигательной активности крыс при ЧМТ и действии цитопротекторов (мексикора и цитофлавина).

Для решения поставленных задач А.В.Полозова использовала модель черепно-мозговой травмы у крыс (*in vivo*) и модели стрессового воздействия *in vitro*. В ходе исследований производилось: определение электрофоретической подвижности и агрегации эритроцитов; концентрации в них малонового диальдегида; активности каталазы и Na-K-АТФазы эритроцитов; содержания 2.3-ДФГ и АТФ. Отдельные исследования проведены по оценке уровня гемоглобина, количества эритроцитов и состояния системы свертывания крови.

Комплексную фазометрию эритроцитов автор оценивала методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии (микроскоп МИМ-340, Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова, Россия). В части исследования применялась световая микроскопия.

Для оценки двигательных нарушений крыс в посттравматический период ЧМТ применен тест «метод оценки передвижения по бруску».

В Главе Результаты и их обсуждение автор описывает полученные экспериментальные данные, сопоставляя их с уже известными фактами по изучаемой проблеме.

Исследование функциональных показателей эритроцитов при действии цитофлавина и мексикора выявило, что влияние препаратов сопровождалось повышением ЭФПЭ, снижением агрегации эритроцитов и концентрации МДА на фоне увеличения активности каталазы и Na-K-АТФазы.

Терапия мексикором и цитофлавином снижала возросшую после ЧМТ концентрацию МДА. Последнее свидетельствует об уменьшении выраженности окислительного стресса. Обнаружены различия в действии препаратов. При внутрибрюшинном введении мексикора снижение МДА в 2 раза наблюдали с 3 суток. При действии цитофлавина концентрация МДА восстанавливалась до показателей нормы на 7 сутки. С 3 суток при введении мексикора зарегистрировано увеличение на 96% активности Na-K-АТФазы, при введении цитофлавина на 32% относительно значений интактных животных. Активность фермента восстанавливалась до нормальных значений

при введении цитофлавина на 7, мексикора на 12 сутки соответственно. Использование цитопротекторов в посттравматическом периоде ЧМТ снижало скорость протекания дезинтеграционных процессов в эритроцитах с последующей компенсацией коагулянтных каскадов.

Мексикор и цитофлавин приводили к нормализации равновесия и ходьбы на модели хождения по бруску. Улучшение двигательных реакций регистрировалось к 3 суткам после введения препаратов и достигало значений интактных животных к 7 суткам эксперимента при терапии мексикором и к 12 суткам при применении цитофлавина.

Применение лазерной модуляционной интерференционной микроскопии позволило обнаружить, что в ответ на ЧМТ в эритроцитах запускается процесс дезинтеграции мембран, нарушение метаболизма в токе крови в большом количестве появляются морфологически измененные формы клеток. При действии мексикора и цитофлавина происходит восстановление морфоструктурных показателей эритроцитов, сопровождающееся повышением их энергетического потенциала. Проведенные исследования показали, что использование цитопротекторов вызывает восстановление состояния эритроцитов, сопровождающееся нормализацией микроциркуляции, снижением отёчности коры головного мозга, восстановлением кровотока в зоне пенумбры, сохранением нейронов и клеток глии в посттравматическом периоде ЧМТ.

Раздел Заключение – в сжатом виде суммирует полученные автором результаты.

Степень обоснованности и достоверности результатов, и выводов, сформулированных в работе

Достоверность полученных результатов и выводов определяется применением адекватных для работ такого рода методов и подходов, а также значительным фактическим экспериментальным материалом и корректными

методами статистической обработки результатов. Выводы работы не вызывают сомнений, соответствуют поставленным задачам, достоверны и логично вытекают из результатов проведенных автором исследований. Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 1.5.5 — «Физиология человека и животных».

Результаты диссертационной работы представлены в 45 научных работах, из них 12 статей в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), рекомендованных Перечнем ВАК, и 33 - тезисы конференций.

Автореферат кратко и в полной мере отражает суть проведенных автором исследований.

Замечания Замечаний по работе нет.

Вопросы

1. Чем Вы руководствовались при подборе доз изучаемых лекарственных препаратов и схемы их введения?
2. Можно ли перенести разработанный Вами подход патогенетической терапии ЧМТ на человека ?
3. Как Вы думаете, в какой дозировке можно применять цитофлавин и мексикор для нивелирования последствий ЧМТ у человека? Сколько времени должен занимать курс препаратов?

Заключение

Возникшие, после прочтения рукописи вопросы носят дискуссионный характер и не затрагивают сути, проведенных автором исследований.

По своей актуальности, форме, объему проведенных исследований, научной и практической значимости, обоснованности положений, выносимых на защиту, а также выводов работа А.В. Полозовой «Морфоструктурные особенности и функциональное состояние эритроцитов

при моделировании черепно-мозговой травмы и её экспериментальной коррекции» соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 — «Физиология человека и животных» п.9 постановления правительства РФ N 842 от 24.09.2013 (с изменениями от 02.08.2016 N 355). Автор исследования Анастасия Владимировна Полозова заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 — «Физиология человека и животных».

Лопатина Екатерина Валентиновна

Заведующая кафедрой физиологии нормальной

Первого Санкт-Петербургского

государственного медицинского

университета им.акад. И.П.Павлова

Министерства здравоохранения РФ

доктор биологических наук, доцент

Е.В.Лопатина



Подпись руки заверяю: *Е.В.Лопатина*
Специалист по кадрам
О.С.Померанцева
2018 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им.акад. И.П.Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 197022; Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8; тел.:8-812-338-66-04;
адрес электронной почты: evlopatina@yandex.ru