

ОТЗЫВ

официального оппонента - доктора медицинских наук, профессора, академика РАЕН В.Н. Швалева - о диссертационной работе Т.В. Повышевой «Реакция глиии спинного мозга мыши в условиях космического полета и опорной разгрузки задних конечностей», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность работы. Диссертационная работа Т.В. Повышевой посвящена актуальной проблеме современной фундаментальной медицины - изучению процессов изменений глиальных элементов центральной нервной системы (на примере спинного мозга) при космическом полете, а также в условиях снижения напряжения нижних конечностей животных при экспериментальных исследованиях. Детальные исследования результатов гипогравитации имеют несомненное практическое значение. Автор справедливо отмечает, что нарушения особенностей взаимодействий между нейронами и глией в спинном мозге при гипогравитационном двигательном синдроме способствуют возникновению значительных морфофункциональных изменений состояния мотонейронов.

Гипогравитационный синдром сопровождается нарушением содержания нейромедиаторов в спинном мозге и сочетается с развитием изменений двигательных особенностей скелетной мускулатуры. Особое значение имеют изменения взаимоотношений между астроцитами, составляющие 65% клеток ЦНС, и нейронами. Автор детально описывает типы и маркеры астроцитов, отмечая их участие в нейрогенезе, выполнение трофической функции, координацию синаптической активности. Они защищают нейроны от окислительного процесса, оказывая нейропротекторное действие при нейродегенеративных заболеваниях. В целом автор подчеркивает морфофункциональные свойства астроцитов как важнейший глиальный компонент в ЦНС (см. стр. 23). Описание миелинообразующих клеток - олигодендроцитов характеризуется упоминанием трех различных популяций предшественников олигодендроцитов - первых - кортикальных, вторых - расположенных в дорсальной части нервной трубки и третьих, мигрирующих между ганглиозными бугорками и субвентрикулярной зоной. Вместе с тем, как отмечает Ю.А.Челышев при патологии спинного мозга выделяются глиоциты, экспрессирующие NG2 -протеогликан. Они появляются на ранних

стадиях развития и рассматриваются как четвертый тип глиальных клеток после микроглии, которая является резидентом иммунной системы.

Значение глии в изменениях деятельности организма, подвергающегося постоянной динамической разгрузке в условиях космических полетов, актуальность ее исследований в целях профилактики нарушений состояния космонавта.

Методический уровень исследований. Автором диссертации в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике, изучены 28 самцов мышей, которые находились в условиях космического полета или подвергались соответствующим испытаниям на Земле. Изучение опорной разгрузки задних конечностей подопытных животных производилось стандартным методом. Время проведения эксперимента составляло 30 суток.

Гистологические исследования поясничного и шейного отделов спинного мозга проводились после их фиксирования в растворе формальдегида. Существенное значение имели детальные анализы поперечных срезов спинного мозга при исследовании в конкретных зонах вентральных рогов, кортикоспинального тракта в дорсальных канатиках, вентральных канатиках, центрального канала и зоне вхождения дорсальных корешков. На стр.44 приводится изображение областей подсчета глиальных клеток, при завершении которого производилась статистическая обработка результатов.

Результаты исследований. Изучение поясничного отдела спинного мозга представляют особый интерес при анализе состояния астроцитов. На рис. 2 и 3 отображены результаты экспрессии красного - GFAP и желтого S100B белков в результате опорной разгрузки задних конечностей. Изменения количества S100B клеток. На последующих цветных рисунках автор демонстрирует результаты экспрессии астроцитов в других исследованных зонах спинного мозга при ОРЗК и после космического полета.

При исследованиях миелинообразующих клеток обнаружено, что количество иммунопозитивных клеток уменьшается незначительно. В условиях космического полета снижается экспрессия белка OSP, как можно видеть на рис.12 и 13. Автор детально описывает изменения микроглии -

количество Iba⁺-клеток возрастает у животных полетной группы в сером и белом веществе спинного мозга в среднем в 2,5 раза. Анализ восстановленной группы животных показал определенное различие во всех зонах подсчета. У мышей с ОРЗК установлено достоверное увеличение Iba⁺-клеток в зонах СС и DREZ. НохВ8 - иммунопозитивные клетки в основном сосредоточены при ОРЗК в DREZ-зоне. Активация микроглии, как отмечает автор, представляет значительный механизм при развитии нейродегенеративных заболеваний.

Последующее изложение полученных результатов относится к анализу изменений глии в шейном отделе спинного мозга, реакция которого выражена в меньшей степени по сравнению с поясничным отделом. Эти наблюдения отчетливо подтверждаются в цветных снимках на стр. 67 и 71. Изложение полученных материалов также начинается с результатов анализа состояния астроцитов. Установлено их увеличение в зонах DREZ. Автор предполагает, что при разгрузке задних конечностей при экспериментальном изучении животных на Земле у них возрастает тонус мышцы передней части тела, что является стимулом изменений в системе «нейрон - глия». Изучение состояния миелинообразующих клеток в шейном отделе спинного мозга показало снижение количества P0-клеток в зоне DREZ и СС в среднем в полтора раза. В конце месяца исследований шейного отдела спинного мозга у мышей в полетной группе установлено уменьшение показателя флуоресцентной плотности OSP при сравнении с контрольной группой.

Анализ состояния микроглии как в поясничном, так и шейном отделах спинного мозга демонстрировал ее активацию в условиях космического полета и при опорной разгрузке задних конечностей экспериментальных животных.

Диссертантом осуществлено основательное обсуждение полученных результатов исследований состояния глии спинного мозга животных в условиях космического полета и при опытах опорной разгрузки задних конечностей. Особое значение астроцитов в реакции на изменение условий существования рассматривается как активное проявление их апоптоза в результате ряда негативных факторов. Автор наряду с возникающей стресс-реакцией и активацией микроглии отмечает процесс изменения пенетрабельности клеток в мозг. Развитие гипогравитационного двигательного синдрома происходит в связи с активацией астроцитов. Очевидна неодинаковая реакция астроцитов на воздействие микрогравитации в разных морфологических зонах спинного мозга.

При исследованиях изменений тканей спинного мозга после месяца космического полета было выявлено нарастание количества белка S100B+ сером и белом веществе спинного мозга, причем количество белка превалировало в сером веществе. Экспрессия белка происходит не только в астроцитах, но и в предшественниках нервных клеток. Обращает внимание, что основной прирост белка S100B+ при космических полетах приходится на неастроцитарную глию. Этот белок оказывает положительное воздействие на нейроны и снижает реактивность микроглии. В процессе изменений спинного мозга при хронической травме определенное значение имеют изменения фенотипа миелинообразующих клеток. Важным выводом работы является заключение, что выявленные в спинном мозге, особенно в поясничном утолщении, выраженные изменения численности астроцитов, олигодендроцитов, миелинообразующих и микроглиальных клеток доказывают активное участие глии в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома, что имеет как теоретическое, так и практическое значение. Приводимые автором диссертации конкретные результаты изучения реакции глии спинного мозга на космические полеты и опорную разгрузку задних конечностей и четкая формулировка выводов позволяют высоко оценить проделанную работу и отметить ее большое значение при новых планируемых полетах космонавтов.

В качестве замечания по тексту диссертации следует отметить отсутствие сведений о результатах конкретного участия соавторов основных совместных статей (2014), посвященных изучению астроцитов и микроглии мышей в условиях опорной разгрузки задних конечностей. В тексте отмечаются работы О.В.Тяпкиной, Р.Р. Исламова, но не отображаются конкретные результаты исследований Я.О.Мухамедшиной.

Особое замечание при анализе защищаемой диссертации относится не столько к диссертантке, сколько к современным требованиям к оформлению проделанных диссертационных работ. В течение многих лет я работал в ВАКе и раньше не было условия диссертантам не помещать в списке литературы названия собственных публикаций. В результате при посещении библиотеки специалистам, интересующимся исследованиями автора диссертации, нет возможности выяснить его публикации, а авторефераты диссертаций обычно отсутствуют в библиотеках. Из опубликованных Т.В. Повышевой 13 работ все отсутствуют в списке литературы диссертации, хотя автор упоминает на стр. 8 названия конференций, на которых были сделаны доклады. В диссертационном списке литературы отображена только одна статья научного руководителя диссертации профессора Ю.А. Чельшева.

Заключение

Диссертационная работа Т.В. Повышевой, выполненная при научном руководстве доктора медицинских наук, профессора Ю.А. Чельшева, является законченной научно-квалификационной работой, представляющей собой научное достижение, связанное с выяснением механизмов функционирования возбудимых тканей. Работа имеет важное значение для фундаментальной, медицины и здравоохранения.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК Министерства образования и науки РФ предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Татьяна Вячеславовна Повышева заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 «клеточная биология, цитология, гистология».

Оппонент - доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник - ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации,

В.Н. Швалев

Подпись профессора В.Н. Швалева заверяю



Ученый секретарь,
доктор медицинских наук

А.А.СКВОРЦОВ

«14» ноября 2018 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Российский национальный медицинский исследовательский центр кардиологии МЗ РФ,
121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а

Тел.: 8(903)595-4943, электронный адрес: