

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертацию Гладковой Жанны Анатольевны
«Особенности морфофункциональных изменений структур
продолговатого мозга и их значимость в реализации витальных
процессов при бактериальной эндотоксинемии», представленную
к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

В соответствии с требованиями параграфа 43 «Положения о совете по защите диссертаций» ВАК Республики Беларусь на основании изучения диссертации, автореферата и опубликованных работ официально заключаю следующее.

Соответствие научных результатов диссертации и положений, выносимых на защиту, специальности и отрасли науки, по которым диссертация представлена к защите

Диссертационная работа Гладковой Жанны Анатольевны «Особенности морфофункциональных изменений структур продолговатого мозга и их значимость в реализации витальных процессов при бактериальной эндотоксинемии» по актуальности, предмету и объекту исследования, цели и задачам, положениям, выносимым на защиту, результатам исследования, свидетельствующим об особенностях влияния различных доз и способов введения бактериального эндотоксина на импульсную активность нейронов структур продолговатого мозга у крыс и значимости ее изменений в реализации витальных функций организма, соответствует паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология (отрасль – биологические науки).

Специальность 14.03.03 – патологическая физиология (отрасль – биологические науки) включает в себя экспериментальное моделирование патологических процессов и болезней, разработку классификации и номенклатуры болезней, изучение социальных аспектов ее развития (пункт 1), а также изучение общего патогенеза с раскрытием механизмов устойчивости организмов к действию болезнестворных факторов, изучение общих закономерностей и механизмов развития болезни, процессов выздоровления и умирания (пункт 3) раздела III области исследования, утвержденного Приказом Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 23 апреля 2018 г. № 116.

В работе исследованы закономерности нарушений импульсной активности нейронов различных участков продолговатого мозга в реализации деятельности сердечно-сосудистой системы, глубокой температуры тела, латентного периода ноцицептивной реакции при экспериментальном моделировании бактериальной эндотоксинемии у крыс с помощью

внутривенного и хронического интраназального апплицирования липополисахарида *E. Coli* в различных концентрациях.

Изучены особенности изменений импульсной активности нейронов ядра солитарного тракта, частоты сердечных сокращений и температуры тела на действие бактериального эндотоксина в зависимости от функционального состояния центральных альфа-адренорецепторов.

Актуальность темы диссертации

Диссертационное исследование Гладковой Ж. А. посвящено актуальной проблеме в области медико-биологических наук по изучению морфофункциональных изменений структур продолговатого мозга и установлении их значимости в регуляции работы сердечно-сосудистой системы, терморегуляции, ноцицептивной боли у крыс при бактериальной эндотоксинемии.

Высокая частота распространенности сердечно-сосудистых заболеваний в мире среди лиц старшего поколения, значимый риск их перерождения в сосудистую деменцию и нейродегенеративные заболевания, в частности болезни Паркинсона и Альцгеймера, определяют необходимость поиска новых ключевых факторов развития данных патологий. Имеются немногочисленные исследования, связанные с изучением прямого или косвенного участия механизмов нейровоспаления, а также дисфункциональности оси «микробиота-кишечник-мозг», обусловленной повышением проницаемости гистогематических барьеров слизистой оболочки кишечника с транслокацией эндотоксинов условно патогенных энтеробактерий в кровеносное русло, на развитие сосудистой и церебральной патологии.

В настоящее время хорошо известно участие различных отделов ЦНС в развитии нарушений в деятельности сердечно-сосудистой системы. Выяснение значимости морфофункциональных изменений в каудальных и ростральных участках вентролатеральных отделах продолговатого мозга, которые отвечают за контроль витальных функций организма, в зависимости от концентрации и способа поступления в организм липополисахарида *E. Coli* до сих пор не были предметом специального исследования, что и определило цель и задачи настоящего исследования.

Прием антигипертензивных, кардиотропных лекарственных препаратов на фоне острых и хронических воспалительных процессов особенно у коморбидных пациентов сопровождается развитием ряда побочных реакций и нежелательных эффектов. Недостаточно изученным является вопрос о причинах данных изменений при различных путях поступления в организм бактериальных эндотоксинов, в том числе, липополисахарида *E. Coli*.

Также существенно важным и актуальным является установление фактов нейродегенеративных изменений в нейронах ядра солитарного тракта, участках вентролатеральных отделов продолговатого мозга, области черной субстанции и базальных ядер при хроническом апплицировании различных

доз бактериального эндотоксина на слизистую оболочку полости носа крыс, что также определяет целесообразность настоящего исследования.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Результаты исследования Гладковой Ж. А., представленные в ее диссертации, и научные положения, выносимые на защиту, отличаются новизной, так как позволили раскрыть ранее неизвестные особенности влияния различных доз и способов введения бактериального эндотоксина на импульсную активность нейронов структур продолговатого мозга у крыс и значимости ее изменений в реализации витальных функций организма, а именно:

- выявлено, что снижение спонтанной электрической активности нейронов отделов продолговатого мозга (ядро солитарного тракта, каудальные и ростральные участки вентролатеральных отделов) у наркотизированных крыс, возникающее после однократного внутривенного или хронического интраназального введения липополисахарида *E. coli* в различных дозах, влияет на изменение частоты сердечных сокращений и температуру тела у крыс;
- установлен сопоставимый эффект с повышением систолического артериального давления и гипералгезией через 45 мин после внутрибрюшинного введения липополисахарида *E. coli* в различных дозах и на 7-е, 14-е и 21-е сутки после его интраназального апплицирования в дозе 10 мкг/кг;
- показано, что в результате 3-х недельной аппликации липополисахарида *E. coli* на слизистую оболочку полости носа крыс, наблюдаются морфологические изменения в ядре солитарного тракта, каудальных и ростральных участках вентролатеральных отделов продолговатого мозга с возрастанием значений таких показателей, как тяжесть, степень и объем поражений нейронов, глиальный индекс, увеличивающиеся с повышением дозы введенного бактериального эндотоксина.
- обнаружено, что импульсная активность нейронов ядра солитарного тракта, частота сердечных сокращений, глубокая температура тела у крыс разнонаправленно изменяются в ответ на внутривенное введение или интраназальное апплицирование различных доз бактериального эндотоксина в условиях действия в организме как стимулятора центральных альфа2-адренорецепторов клонидина, так и блокатора альфа1-адренорецепторов урапидила.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Экспериментальные исследования выполнены на 347 крысах-самцах Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Были проведены

острые и хронические опыты. В каждой серии исследований присутствовали контрольная группа (введение либо интраназальное апплицирование апирогенного физиологического раствора) и группа животных, с моделированием бактериальной эндотоксикемии путем внутривенного/внутрибрюшинного введения либо интраназального апплицирования липополисахарида *E. coli* (ЛПС *E. coli*; серия 0111: B4, Sigma-Aldrich, США) в различных дозах. Использован спектр адекватных методов исследования: морфологические исследования структур головного мозга с оценкой морфоструктурных изменений нейронов, регистрация частоты разрядов нейронов в различных структурах продолговатого мозга, определение систолического артериального давления, глубокой температуры тела, латентного периода ноцицептивной реакции с помощью устройства «Горячая пластина». Результаты исследований обработаны с использованием программ «Statistica 10.0» с помощью стандартных параметрических и непараметрических методов.

Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации Гладковой Ж. А. достаточно научно обоснованы и достоверны, содержат решение задач настоящей работы, логически вытекают из результатов проведенных исследований и полностью отражают основные положения, выносимые на защиту.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Диссертация Гладковой Ж. А. содержит совокупность новых данных, имеющих значение для развития приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 гг., утвержденным постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 г. № 190 (п. 4 Медицина и фармация). В результате проведенного исследования автором впервые были выявлены особенности изменений спонтанной электрической активности нейронов отделов продолговатого мозга (ядро солитарного тракта, каудальные и ростральные участки вентролатеральных отделов) у наркотизированных крыс на внутривенное либо интраназальное введение липополисахарида *E. coli* в различных дозах и участие этих нейронов в регуляции витальных функций организма.

Практическая значимость работы заключается в обосновании экспериментальной модели нейронального повреждения в головном мозге. В частности, полученные результаты о развитии морфоструктурных изменений в различных участках продолговатого мозга крыс после хронического интраназального апплицирования липополисахарида *E. coli* в различных дозах вносят определенный вклад в изучение причин развития нейродегенеративных заболеваний и последствий длительного контакта

слизистой оболочки полости носа с бактериальным эндотоксином. Полученные результаты могут быть использованы в научно-исследовательских работах по изучению центральных механизмов развития сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний в условиях бактериальной эндотоксикемии.

У пациентов с сердечно-сосудистой и нейродегенеративной патологиями в рутинной лабораторной практике не определяют содержание ЛПС *E. coli* в крови. Выявленные особенности морфофункциональных изменений структур продолговатого мозга и их значимость в реализации витальных процессов как после внутривенного введения, так и после интраназальной аппликации бактериального эндотоксина в различных дозах, обосновывают необходимость разработки тест-систем для определения содержания бактериального эндотоксина в крови у пациентов. Данные об особенностях влияния ЛПС *E. coli* на импульсную активность нейронов ядра солитарного тракта в условиях предварительного введения препаратов, относящихся к группам стимуляторов альфа2-адренорецепторов и блокаторов альфа1-адренорецепторов, послужат научным обоснованием необходимости корректировать дозы назначаемых антигипертензивных средств пациентам с нейродегенеративными и сердечно-сосудистыми заболеваниями, сопровождающимися бактериальной эндотоксикемией, что позволит минимизировать возникающие осложнения.

Подтверждением прикладного значения работы является внедрение полученных результатов в образовательный процесс учреждений образования «Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка» и «Белорусский государственный университет физической культуры», в научно-исследовательскую работу государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии».

Все это свидетельствует о том, что результаты диссертационного исследования Гладковой Ж.А. обладают высокой степенью научной, практической, а также социальной значимостью.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 28 печатных работ, в том числе 8 статей (1 – без соавторов) в научных журналах, соответствующих части первой пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 9 статей в рецензируемых сборниках научных трудов и материалов конференций (5 – без соавторов), 11 тезисов докладов в сборниках материалов конференций (7 – без соавторов, 3 – в странах дальнего зарубежья на английском языке). Общий объем опубликованных работ составил 3,9 авторского листа.

Материалы диссертации докладывались на 10 научных конференциях республиканского и международного значения, что говорит о должном уровне их апробации.

Таким образом, можно заключить, что опубликованность результатов по диссертации Гладковой Ж.А. является достаточной.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК Республики Беларусь

Диссертационная работа Гладковой Ж. А. структурирована и оформлена в соответствии с требованиями инструкции «О порядке оформления диссертации, диссертации в виде научного доклада, автореферата диссертации и публикаций по теме диссертации» ВАК Республики Беларусь от 28.02.2014 № 3 (в редакции постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 22.08.2022 № 5).

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста и включает: введение, общую характеристику работы, аналитический обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение результатов собственных исследований (3 главы), главу с анализом и обобщением полученных результатов, заключение, включающее 4 вывода со ссылками на публикации соискателя и рекомендациями по практическому использованию результатов исследования, библиографический список, включающий 200 источников литературы (40 – на русском, 160 – на английском языках), списка публикаций соискателя – 28 работ, приложения (акты о внедрении результатов диссертационной работы). Материал диссертационного исследования представлен на русском языке и содержит 35 рисунков, 6 таблиц. Диссертационная работа написана грамотно, хорошо оформлена, логично построена.

Автореферат соответствует содержанию диссертации и полностью отражает ее основные результаты.

Принципиальных замечаний по диссертации нет. Несмотря на многочисленные достоинства диссертации, возник ряд вопросов и замечания.

1. Поясните, пожалуйста, каков механизм развития гипералгезии у крыс после интраназального апплицирования ЛПС *E. coli* ?

2. Чем был обусловлен выбор антигипертензивных препаратов клонидина и урапидила для определения их роли в регуляции функций организма в условиях бактериальной эндотоксикемии?

3. Представляло бы интерес сопоставить выраженность системного воспаления, в зависимости от способов введения липополисахарида *E. coli*, по изменению лабораторных показателей в крови животных.

4. Имеются отдельные неточные выражения (стр. 30): автор использует термины – нейропатологические признаки и невропатологические изменения, когда правильнее было бы написать патологические признаки и патологические изменения в нервной ткани головного мозга.

Сформулированные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы и являются пожеланиями по дальнейшему планированию исследований.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Соискатель ученой степени кандидата биологических наук Гладкова Ж.А. обладает данной научной квалификацией соискателя ученой степени, на которую она претендует, участвовала в выполнении следующих научных программ и тем:

- ГПНИ «Конвергенция» задания 3.3.03 «Анализ сигнальных механизмов функционирования и интеграции гетерогенных структур мозга в условиях внешних и внутренних модулирующих воздействий и разработка технологий их коррекции при патологии» (2014–2015, № государственной регистрации 20140899);
- ГНТП «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики» НИР № 5Б/2015 «В модели на животных определить условия аномальных сдвигов глубокой температуры тела на повторные введения раствора ацетилсалициловой кислоты с эндотоксином в полость носа крыс и предложить способы коррекции этих состояний» (2015, № государственной регистрации 20151339);
- БРФФИ № Б17М–048 «Сопоставление соматического и висцерального статуса у нормо- и гипертензивных крыс в условиях экспериментальной эндотоксемии» (2017–2019, № государственной регистрации 20171071);
- ГПНИ «Конвергенция 2020» задание 3.09 «Исследование пространственной организации нейронных сетей в трехмерных моделях для инициации механизмов пластичности при нейродеструктивных процессах» (2016–2020, № государственной регистрации 20161765);
- ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи» задание 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» (2016–2020, № государственной регистрации 20171292).

Большой объем проведенных экспериментальных исследований, грамотный анализ полученных результатов, наличие научной новизны и практической значимости с внедрением результатов работы в научный и учебный процессы ряда научно-исследовательских учреждений и ВУЗов страны, позволяют заключить, что научная квалификация Гладковой Ж.А. соответствует ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, на которую она претендует.

Заключение

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Гладковой Ж.А. соответствует требованиям, установленным главой 3 Положения о присуждении ученых

степеней и присвоении ученых званий ВАК Республики Беларусь (в ред. Указа Президента Республики Беларусь от 02.06.2022 № 190) специальности 14.03.03 – патологическая физиология, отрасли биологические науки.

Считаю, что ученая степень кандидата биологических наук по указанной специальности может быть присуждена Гладковой Жанне Анатольевне за:

1. Установление дозозависимого эффекта от внутривенного либо хронического интраназального введения липополисахарида *E. coli* на частоту разрядов нейронов каудальных/ростральных участков вентролатеральных отделов продолговатого мозга, ядра солитарного тракта с изменением частоты сердечных сокращений и глубокой температуры тела.

2. Обоснование триггерной роли бактериального эндотоксина в значимом повышении систолического артериального давления и снижении длительности латентного периода ноцицептивных реакций у ненаркотизированных животных.

3. Экспериментальное доказательство участия липополисахарида *E. coli* при его интраназальном хроническом введении в развитии нейродегенеративных изменений в каудальных и ростральных участках вентролатеральных отделов продолговатого мозга, ядрах солитарного тракта, черной субстанции, базальных ядрах головного мозга.

4. Обнаружение разнонаправленного влияния различных доз и способов введения бактериального эндотоксина на витальные функции в условиях предварительного введения в организм как стимулятора центральных альфа2-адренорецепторов клонидина, так и блокатора альфа1-адренорецепторов урапидила.

Полученные новые научно обоснованные экспериментальные данные в совокупности вносят существенный вклад в решение важной научной проблемы, способствуя развитию представлений о характере изменений витальных функций организма и подходах к их коррекции при бактериальной эндотоксинемии.

Выражаю свое согласие на размещение отзыва на диссертацию на официальном сайте государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларусь».

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник
лаборатории клинической
патофизиологии нервной системы
государственного учреждения
«Республиканский научно-практический
центр неврологии и нейрохирургии»,
кандидат биологических наук, доцент

28 ноября 2023 г.

