ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Жданкиной Анны Александровны на диссертацию Обаниной Натальи Андреевны на тему «Ультраструктурные особенности гематоэнцефалического барьера и нейронов префронтальной коры при моделировании меланомы кожи и применении модуляторов аутофагии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология

Актуальность темы. Диссертационная работа Н.А. Обаниной посвящена одной из актуальных проблем современной клеточной биологии и нейробиологии – изучению структурно-функционального состояния префронтальной коры центральной нервной системы в условиях онкопатологии.

Нейроны префронтальной коры являются высокодифференцированными постмитотическими клетками. Их сохранность критически важна для функционирования мозга, поскольку нейроны обеспечивают все основные процессы – от синаптической передачи и пластичности до когнитивных функций и регуляции поведения. В отличие от большинства других клеток организма, повреждение нейронов носит необратимый характер. Особую уязвимость нейронам придает их исключительно высокая метаболическая потребность: мозг использует значительное количество кислорода и глюкозы, что делает нейроны чувствительными к окислительному стрессу, гипоксии и нарушениям энергетического обмена. Повреждение или дисфункция нейронов ведет к снижению когнитивных способностей и нарушению поведения, что делает их объектом пристального внимания при изучении нейропатологических эффектов, в том числе в онкопатологии.

В связи с уникальной структурой и высокой метаболической потребностью нейронов для поддержания гомеостаза клеток мозга критически важным процессом является аутофагия. Аутофагия действует как защитный механизм, позволяя нейронам адаптироваться к воздействию различных стрессоров, включая окислительный стресс и нейротоксичность, разрушая поврежденные клеточные компоненты и способствуя выживанию клеток. Нарушение регуляции аутофагии связывается с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера и боковой амиотрофический склероз. В связи с этим исследование, направленное на анализ структурной организации нейронов в условиях опухолевого роста и при воздействии модуляторов аутофагии, представляется научно актуальным и обоснованным.

Обоснованность и достоверность научных положений, полученных результатов и выводов диссертации. Достоверность результатов обеспечивается достаточным объемом экспериментального материала, корректным дизайном исследования с формированием групп сравнения (Контроль, Опухоль, Опухоль+Li, Контроль+Li, Опухоль+CQ, Контроль+CQ), использованием современных методов световой и электронной микроско-

пии, иммунофлуоресцентного и иммуногистохимического анализа, морфометрии и статистической обработки данных.

Ключевым объектом морфометрического анализа в диссертации Н.А. Обаниной явились пирамидные нейроны V слоя префронтальной коры, что полностью соответствует цели и задачам работы. Именно ультраструктурный анализ нейронов с применением количественной морфометрии позволил автору выявить те субклеточные изменения, которые остаются недоступными для других методов исследования. Оценивали объемную плотность митохондрий с деструктивными изменениями, ЭПР с расширенными цистернами, полисом, транспортных везикул, клатриновых везикул, аутофагосом, аутолизосом, лизосом и липофусциновых телец. Критерии идентификации аутофагических структур соответствуют международным рекомендациям. Такой методический подход соответствует современным требованиям к ультраструктурным исследованиям и обеспечивает высокую воспроизводимость результатов.

Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica v. 10. Для проверки вариационного ряда на нормальность использовался критерий Колмогорова-Смирнова. Результаты не соответствовали критериям нормального распределения, поэтому описание количественных характеристик автор представила в виде медианы, первого и третьего квартилей. Достоверность различий между исследуемыми выборками определена с помощью U-критерия Манна-Уитни и критерия Краскела-Уоллиса. Результаты считали значимыми при $p<0,05$. Выводы, сформулированные автором, логически вытекают из полученных результатов и полностью соответствуют поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, аргументированы и подтверждены фактическим материалом.

Научная новизна полученных результатов. Впервые проведен комплексный ультраструктурный анализ изменений нейронов и компонентов гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) префронтальной коры в условиях моделирования меланомы кожи. Автором убедительно показано, что развитие меланомы В16 сопровождается деструктивными изменениями митохондрий и эндоплазматического ретикулума, дисбалансом аутофагического потока в нейронах, признаками эндотелиальной дисфункции. Впервые показано действие карбоната лития на нейроны интактных животных, приводящее к уменьшению объемной плотности митохондрий и ЭПР со структурными нарушениями, снижению неопушенных и опушенных клатрином везикул, увеличению количества синапсов и экспрессии синаптофизина.

Впервые в модели меланомы кожи в пирамидных нейронах префронтальной коры отмечено значительное повышение объемной плотности митохондрий с деструктивными изменениями крист и расширение цистерн гранулярного ЭПР, что является ультраструк-

турными признаками окислительного стресса и стресса ЭПР. Впервые проанализирована ультраструктура компонентов гематоэнцефалического барьера префронтальной коры при моделировании меланомы кожи. Выявлены структурные признаки повышения проницаемости ГЭБ, связанные с увеличением экспрессии AQP4. Впервые отмечено, что карбонат лития способствует восстановлению структурно-функционального состояния ГЭБ.

Впервые показано, что в пирамидных нейронах префронтальной коры при моделировании меланомы кожи происходит изменение соотношения аутофагических структур: преобладание аутофагосом и повышение уровня белка-маркера аутофагии LC3β, что может отражать дисбаланс в системе утилизации клеточных компонентов и нарушение процесса аутофагии. Выявлено, что карбонат лития способствует восстановлению баланса между аутофагическими структурами и снижению объемной плотности деструктивных органелл.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. Выявленный ряд изменений от дисфункции ГЭБ до синаптических нарушений создаёт морфологическую основу для объяснения когнитивных и эмоциональных расстройств у онкологических пациентов. Особую ценность представляет сравнительный анализ двух фармакологических стратегий, продемонстрировавший принципиально разные исходы их применения.

Результаты работы обосновывают перспективность дальнейшего изучения препаратов лития для коррекции церебральных осложнений противоопухолевой терапии и одновременно указывают на потенциальные нейротоксические риски применения ингибиторов аутофагии хлорохинового ряда. Полученные данные могут стать теоретической основой для дальнейших экспериментальных и клинических исследований, необходимых для разработки новых подходов для комплексного лечения и защиты нейронов при онкопатологии, а также для расширения показаний применения карбоната лития для профилактики и лечения депрессивных состояний у онкобольных.

Оценка содержания диссертации и ее завершенности в целом.

Диссертация Н.А. Обаниной построена по классической схеме и включает все необходимые разделы, обеспечивающие логическую последовательность изложения материала.

Введение содержит исчерпывающую характеристику работы: актуальность исследования обоснована ростом заболеваемости меланомой кожи и недостаточной изученностью её системного влияния на ЦНС. Цель и шесть задач сформулированы корректно, полностью соответствуют теме и отражают все этапы исследования. Научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, изложены

чётко. Апробация работы на конференциях различного уровня и 14 публикаций, из которых 3 – в журналах, рекомендованных ВАК, свидетельствуют о достаточной полноте опубликования результатов.

Обзор литературы представляет собой глубокий анализ 193 источников, преимущественно за последние 5-10 лет. Автор последовательно рассматривает эпидемиологию, этиологию и патогенез меланомы кожи, механизмы повреждения ЦНС, характеристику экспериментальной модели меланомы B16, молекулярно-клеточную организацию ГЭБ и механизмы его дисфункции, нейробиологические аспекты системного влияния опухоли, молекулярную организацию аутофагии, а также литий и хлорохин как её модуляторы. Завершается обзор обоснованием необходимости настоящего исследования.

Глава 2 «Материал и методы» содержит детальное описание дизайна исследования, включающего шесть экспериментальных групп, что позволяет корректно оценить вклад как опухолевого роста, так и каждого фармакологического агента. Автор подробно описывает процедуру моделирования меланомы, схемы введения препаратов с обоснованием выбранных доз, методы трансмиссионной электронной микроскопии, иммуногистохимического и иммунофлуоресцентного анализа. Методика морфометрии изложена с высокой степенью детализации: указаны увеличения, размеры тест-систем, количество измерений. Критерии идентификации аутофагических структур соответствуют международным рекомендациям. Статистическая обработка проведена корректно.

В третьей и четвертой главе изложены результаты ультраструктурного, морфологического, иммуногистохимического, иммунофлуоресцентного и статистического анализа, которые сопровождаются множеством рисунков и таблиц. Раздел 3.10, обобщающий данные всех групп, представляет собой завершение главы и позволяет читателю увидеть целостную картину изменений. Далее следует подробное обсуждение полученных данных с опорой на научные публикации, что свидетельствует о способности автора анализировать и интерпретировать полученные результаты.

В Заключении автор проводит полный анализ полученных данных и сопоставляет их с данными современной литературы по изучаемой проблеме. Данный раздел диссертационной работы свидетельствует о способности автора анализировать и интерпретировать полученные результаты.

Выводы диссертации сформулированы четко, они обоснованы имеющимися результатами, логично вытекают из них и не вызывают принципиальных возражений. Результаты исследования полностью отражены в 14 публикациях, из которых 3 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Автореферат полностью отражает содержание

диссертации. Все сказанное позволяет высоко оценить диссертационную работу Обаниной Н.А.

Замечания и вопросы.

1. Не указан возраст животных на момент исследования.

2. Почему автором была выбрана именно эта инбредная модель лабораторных животных, которых по данным литературы отличает низкая способность к обучению и высокий уровень агрессии?

3. Что означают термины “контакт типа наложение”, “контакт конец в конец”, как они соотносятся с общепринятой классификацией контактов и как можно интерпретировать такое поведение эндотелия?

4. Почему в группе с опухолью суммарная объемная площадь митохондрий с деструкцией и без и ЭПР с деструкцией и без была выше в группе с опухолью, достоверна ли эта разница, и если достоверна, то по каким причинам?

5. Каков механизм столь быстрого образования липофусцина за 10 суток развития опухолевого процесса и 7 суток введения хлорохина? Совпадают ли эти сроки с имеющимися данными литературы?

Высказанные замечания не снижают общей положительной оценки работы.

Заключение. Кандидатская диссертация Обаниной Натальи Андреевны на тему «Ультраструктурные особенности гематоэнцефалического барьера и нейронов префронтальной коры при моделировании меланомы кожи и применении модуляторов аутофагии», выполненная под руководством доктора биологических наук, профессора Бгатовой Натали Петровны, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для развития клеточной биологии – изучены морфофункциональные изменения пирамидных нейронов и компонентов гематоэнцефалического барьера префронтальной коры головного мозга в условиях моделирования меланомы кожи и воздействии препаратов, модулирующих аутофагию.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикации материалов в научных печатных изданиях диссертация соответствует критериям п. 9 - 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 01.10.2018 г. с изменениями от 26.05.2020 г.), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее

автор Обанина Наталья Андреевна достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология (биологические науки).

Официальный оппонент:

профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук
(специальность 1.5.22 – клеточная биология) Жданкина Анна Александровна

06.11.2026

ВЕРНО
Ученый секр
ова
06.11
20 26

Адрес учреждения:
634050, Россия, г. Томск,
Московский тракт, 2
Тел.: 8 (3822) 909-823
Факс: 8 (3822) 533-309
office@ssmu.ru
https://ssmu.ru/