

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Бурда Сергея Георгиевича на диссертационную работу Григорян Миграна Самвеловича на тему «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.24. Нейробиология**

### **Актуальность избранной темы**

Среди хронических заболеваний нервной системы, эпилепсия одно из наиболее распространенных, встречающееся более чем у 50 миллионов человек во всем мире. В современной неврологии, фармакологии и фармации постоянно идет разработка более эффективных противоэпилептических препаратов, однако почти у 30% пациентов сохраняется резистентность к традиционным схемам лечения, приводящая к прогрессированию когнитивных, психических нарушений.

Одним из перспективных направлений является поиск веществ с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, которые могут предотвращать гибель нейронов, особенно в гиппокампе. В этом контексте, мирицетин, обладающий антиоксидантным и противовоспалительным действием, может быть рассмотрен в качестве потенциального противоэпилептического средства. В связи с чем, в рамках доклинических исследований, используя модель PTZ-индуцированных судорог, представляет интерес изучение поведенческих реакций, а также влияние мирицетина на ключевые звенья эпилептогенеза – такие как каспаз-зависимый путь апоптоза, модуляция провоспалительных цитокинов и активация антиоксидантных ферментов в острой фазе эпилептических судорог, что является актуальной задачей. Проведение фундаментального исследования в области нейробиологии послужит основой для разработки доказательной базы действия мирицетина, обеспечивающих снижение степени нейронального повреждения и предотвращение развития эпилептической системы в рамках эпилептогенеза.

Таким образом, диссертационная работа Григорян Миграна Самвеловича на тему «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения

мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» является весьма актуальной и своевременной и обладает научно-прикладным значением не только для нейробиологии, но и для неврологии в целом.

### **Достоверность и новизна результатов диссертации**

Автором впервые получены данные о структурно-функциональных изменениях в гиппокампе и других лимбических структурах головного мозга, возникающих при острых PTZ-индуцированных судорогах на основании оценки нейрональной дифференцировки и зрелости нейронов (NeuN). Также показано, что PTZ-индуцированные судороги приводят к повышению концентрации маркера дисфункции системы перекисного окисления липидов (MDA) и понижению концентрации ферментов эндогенной антиоксидантной защиты (SOD, GSH) в гомогенате головного мозга. На основании оценки уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), обозначена роль нейровоспаления в патогенезе острого PTZ-индуцированного приступа. Кроме того, автором представлены новые данные о молекулярных механизмах каспаз-зависимого пути апоптоза (активация каспазы-8). Выявлена корреляция между количеством каспаза-8-позитивных и NeuN-позитивных нейронов и судорожной активностью в гиппокампе после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог. И, конечно же, ключевым в научной работе впервые показано, что введение мирицетина в модели PTZ-индуцированного приступа способствует снижению уровня маркеров активности оксидативного стресса, снижению интенсивности дегенеративных изменений и апоптоза нейронов гиппокампа, что не исключает его нейропротекторную эффективность.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала (мыши линии СВА, весом 30 – 35 г; возрастом 12

недель; n=340) с применением современных методов нейробиологического и морфологического исследования.

Корректная статистическая обработка данных, использование валидированных гистологических и иммуногистохимических, поведенческих тестов, а также сравнение между значениями в контрольных и опытных группах позволили обеспечить высокую степень воспроизводимости и объективности полученных результатов.

Все этапы проведенного научного исследования: постановка цели и задач, выбор методов, получение, анализ и статистическая обработка результатов, формулирование основных положений и выводов, теоретической и практической значимости, а также новизны полученных результатов, выполнены автором самостоятельно, скомплектованы базы данных и цифровой архив изображений, к анализу привлечен комплекс современных методов нейробиологии для анализа влияния мирицетина на поведенческий фенотип мышей линии СВА в модели PTZ-индуцированных судорог. В ходе реализации научной работы диссертант лично проводил комплекс поведенческих тестов, гистологическое (в том числе окрашивание по Нисслию), иммуногистохимическое (на маркеры NeuN, каспазу-8) исследования, проводил статистический анализ полученных результатов. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Фактический материал, проанализированный в диссертации, полностью соответствует первичной документации.

### **Ценность для науки и практики результатов работы**

Ценность для науки данного диссертационного исследования заключается в получении новых фундаментальных данных о поведенческих реакциях и морфофункциональных изменениях в гиппокампе при PTZ-индуцированных судорогах: нарушение судорожной активности, сенсомоторных, двигательных, координационных двигательных, когнитивных функций; изменении уровней MDA, SOD, GSH, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ ; нейрональную гибель, активацию каспаз-зависимого пути апоптоза (каспазы-8). Установлена нейропротективная эффективность мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорогах, что

расширяет представления о возможностях патогенетической коррекции эпилептогенеза.

Практическую значимость диссертационного исследования направлена на реализацию и разработку перспективных молекулярных мишеней для фармакологического воздействия и оптимальные условия применения нейропротективного средства – мирицетина, в комплексной терапии острых эпилептических состояний.

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность неврологического отделения ГБУЗ «Ейская ЦРБ» Минздрава Краснодарского края, а также в учебный процесс НОРЦ «Молекулярная морфология» ФГАОУ ВО РУДН им. П. Лумумбы.

На основании результатов проведенного диссертационного исследования решена **актуальная научная задача** – охарактеризованы вклад нейровоспаления, повреждения и гибели нейронов гиппокампа в эпилептогенез и возможности его фармакологической коррекции.

#### **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе 1 научная статья в издании из базы данных RSCI, 1 статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в издании, индексируемом в международной базе (Scopus), 1 публикация в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат соответствует рукописи диссертации. В нём отражены ключевые результаты исследования и основные итоги статистического анализа, подтверждающие положения, выносимые на защиту.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация на тему «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук паспорту научной специальности 1.5.24. Нейробиология, а именно: пунктам 3, 5 и 11.

### **Замечания по работе**

Диссертация написана на 128 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану – состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Таблиц – 2, рисунков – 49. Характеристика списка литературы: всего – 152 источников, отечественных – 25, зарубежных – 127.

В главе «Введение» автор обозначает актуальность и степень разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи, отражает научную новизну, теоретическая и практическая значимость работы, использованную методологию и методы исследования, приводит положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, сообщает о личном вкладе, внедрении результатов диссертации в практику, соответствие диссертации паспорту научной специальности, публикации по теме диссертации и структуру и объем диссертации.

В главе «Обзор литературы» автор остро ставит вопросы о эпилептогенезе и способах лечения, а также анализирует используемые модели при проведении доклинических исследований, показывает преимущества PTZ-индуцированных судорог. Автор рассматривает это всё с позиции сравнительной нейробиологии и нейроморфологии. Преимуществом литературного обзора является анализ традиционных противосудорожных препаратов в сравнении с природными аналогами. В заключении автор подчёркивает, что введение новых терапевтических стратегий – использование природных антиоксидантных и противовоспалительных соединений, может обеспечить снижение частоты и интенсивности приступов, а также уменьшить риск нейродегенеративных изменений, часто сопровождающих длительное течение заболевания.

В главе «Материалы методы» приведены дизайн и методы исследования: 1) Нейробиологические: после введения PTZ проводилась оценка степени судорожной активности у подопытных животных с использованием модифицированной шкалы Расина, специально адаптированной для количественного анализа эпилептической активности у мышей: поведенческие реакции для оценки сенсомоторных, двигательных, когнитивных функций; 2) Анализ маркеров системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты – малонового диальдегида (MDA) и антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (SOD) и глутатиона (GSH) в гомогенате головного мозга; 3) Определение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови; 4) Морфологические: а) гистохимический (окраска по Нисслю), б) иммуногистохимический (антитела к NeuN и антитела к Caspase 8); 5) статистические. Всё обосновывается с позиции медицинской нейробиологии.

В главе «Результаты исследования» автор последовательно представил данные нейробиологических и морфологических исследований:

- введение мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог снижает выраженность нарушений сенсомоторных функций, двигательной координации, общей двигательной активности и поведенческих способностей, что позволяет рассматривать его как потенциально эффективное нейропротекторное средство при острых эпилептических приступах;

- Мирицетин нормализует в тканях головного мозга концентрации маркеров системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, а также снижает значения провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, TNF- $\alpha$ );

- Мирицетин снижает степень нейродегенеративных изменений и апоптоз нейронов гиппокампа у мышей линии СВА, которые коррелируют с характером поведенческих реакций.

Выявленные морфологические и иммуногистохимические изменения (NeuN и каспаза-8) в составе нейронов различных областей мозга, в первую очередь гиппокампа, также статистически значимо коррелировали с интенсивностью поведенческих реакций, что подтверждает функциональную значимость наблюдаемой нейродегенерации.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор сопоставляет собственные данные с другими источниками по заявленной проблеме.

В заключении автор корректно подводит итоги выполнения диссертационной работы и подчёркивает нейропротекторные свойства мирицетина, а также его влияние на механизмы клеточной гибели и восстановление нейронов при судорогах различного генеза.

Таким образом, диссертационная работа Григорян Миграна Самвеловича производит хорошее впечатление: материал изложен последовательно, методология обоснована, выводы соответствуют поставленной цели и задачам. Практические рекомендации обоснованы и вытекают из результатов работы.

Диссертация М.С. Григорян не вызвала принципиальных замечаний.

Однако, есть пожелания, не влияющие на качество проведенной работы:

1. Использовать термин у животных в эксперименте судороги, а в клинике термин приступ, а не припадки.
2. Работу украсило бы проведение электрокортикографии с применением имплантированных электродов, что позволило бы отследить динамику изменений биопотенциалов мозга животных до и после введения мирицетина и соотнести стадии меняющихся изменений в гиппокампе с изменениями б.э.а. головного мозга.

В ходе изучения диссертационной работы возник ряд вопросов:

- 1) Почему для исследования выбрали линию мышей СВА, которые не являются чистой линией грызунов с эпилептическими приступами?
- 2) Чем обусловлен выбор мирицетина как природного антиоксиданта, а не другого вещества с антиоксидантным действием, например, натуральный полифенол, активное вещество куркуминоид

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационное исследование Григорян Миграна Самвеловича на тему «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи – охарактеризованы вклад нейровоспаления, повреждения и гибели нейронов

гиппокампа в эпилептогенез и возможности его фармакологической коррекции, имеющей важное значение для нейробиологии. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Григорян Мигран Самвелович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 1.5.24. Нейробиология.

### Официальный оппонент

Профессор  
кафедры неврологии, нейрохирургии и  
медицинской генетики ИИИ,  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России  
(Пироговский Университет)  
д.м.н., профессор

С.Г. Бурд

Адрес: 117513, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1  
Телефон: +7(495) 434-14-22  
e-mail: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru)

Подпись заверяю  
Ученый секретарь  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России (Пироговский Университет)  
к.м.н., доцент



О.М. Демина