

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Гуляева Сергея Александровича 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

Диссертация посвящена актуальной теме современной нейробиологии – изучению морфофункциональных изменений нервной ткани головного мозга при развитии PTZ-индуцированных судорог и поиску новых механизмов ее защиты.

Эпилептические судороги, возникающие вследствие нарушений механизмов регуляции клеточного возбуждения и торможения, являются клиническим маркером заболевания эпилепсии, которое при возникновении в раннем возрасте приводит к нарушению структуры нервной ткани, что проявляется в нарушении развития высших психических функций, в выраженных случаях, приводя к инвалидизации индивидуума и необходимости его социальной поддержки. В этих условиях проблема поиска безопасных механизмов защиты, которые можно использовать на самых ранних этапах развития человеческого организма, представляю собой большую важность. Одним из наиболее интересных направлений решения этой проблемы является поиск механизмов защиты клеточных мембран от возникающих в процессе развития эпилептических судорог неуправляемого механизма клеточного апоптоза на основе использования молекул веществ, блокирующих глутаматный выброс и различные энзимные механизмы повреждения клеточных мембран, которые в сравнении с традиционно применяемыми антиэпилептическими средствами не подавляют механизмы нормального клеточного возбуждения и позволяют активно развиваться когнитивным функциям.

В связи с вышеизложенным диссертация Григорян Миграна Самвеловича «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» по специальности 1.5.24. Нейробиология, представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук несомненно является актуальной.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Исследование, проведенное М.С. Григорян, выполнено на высоком методическом уровне, полученные результаты, выводы и рекомендации оригинальны. К основным положениям научной новизны представленной диссертационной работы следует отнести:

1. Превентивное введение мирицетина в модели острого PTZ-индуцированного приступа снижает у мышей линии СВА выраженность нарушений сенсомоторных функций, двигательной координации, общей двигательной активности и когнитивных способностей, что позволяет рассматривать его как потенциально эффективное нейропротекторное средство при острых эпилептических припадках.

2. Мирицетин, введенный перед PTZ-индукцией острого приступа, нормализует в тканях головного мозга мышей линии СВА концентрации маркеров системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (MDA, SOD и GSH), а также снижает значения провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) цитокинов в сыворотке крови.

3. Мирицетин, введенный перед PTZ-индукцией острого приступа, снижает степень нейродегенеративных изменений и апоптоз нейронов гиппокампа у мышей линии СВА, которые коррелируют с интенсивностью поведенческих реакций.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, содержащихся в диссертации Григорян Миграна Самвеловича «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог», определяется логической структурой исследования. Автор последовательно исследует влияние морфологических изменений структуры нервной ткани в условиях модельного эксперимента PTZ-индуцированных судорог, а также анализирует особенности механизмов защиты нервной ткани, пребывающей в состоянии патологического возбуждения, посредством подавления системы перекисного окисления липидов – малонового

диальдегида (MDA) и механизмов клеточной гибели посредством применения препарата Мирицетин в модели PTZ-индуцированных судорог.

Достоверность результатов исследования обеспечена использованием современных методов исследования маркеров функционирования системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (MDA) и антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (SOD) и глутатиона (GSH), концентрации провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) цитокинов в сыворотке крови, оценки уровня экспрессии маркера нейрональной дегенерации – NeuN в гиппокампальных структурах, а также определения уровня экспрессии маркера внешнего пути апоптоза – каспазы-8 в нейронах гиппокампальных структур.

Применение современных методов статистической обработки данных, реализованных в современных программах обработки статистики, а также оценка различий на уровне значимости $\alpha=0,05$ позволяют считать результаты достоверными.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждена апробацией результатов исследования на научно-практических конференциях, полным отражением основных результатов диссертационной работы в опубликованных автором научных трудах.

Ценность для науки и практики результатов работы

Теоретическая значимость данного диссертационного исследования заключается в получении новых сведений о молекулярных и морфофункциональных изменениях в гиппокампе при эпилептическом (PTZ-индуцированном) приступе, что позволяет расширить современные представления о патогенетических механизмах эпилептогенеза. Острые PTZ-индуцированные приступы, приводят к значительным структурно-функциональным изменениям в гиппокампе, включая нейрональную гибель по механизму активации каспаз-зависимого пути апоптоза (каспазы-8) с развитием последующей выраженной воспалительной реакции. Эти изменения сопровождаются нарушением межнейронных связей и морфологических изменений в нейрональной сети гиппокампа.

Установленная нейропротективная эффективность мирицетина в условиях PTZ-индуцированного приступа расширяет представления о значении новых

терапевтических мишеней, подавляющих механизмы апоптоза и воспаления, что делает эту работу значимым вкладом в развитие науки и медицины, а также в формирование стратегий персонализированного подхода к лечению эпилепсии.

Практическая значимость работы состоит в том, что результаты исследования позволяют определить перспективные молекулярные мишени для фармакологического воздействия и оптимальные условия применения нейропротективных агентов, таких как мирицетин, в комплексной терапии различных эпилептических состояний. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых подходов к защите нервной системы и предотвращению нейродегенеративных изменений, что открывает возможности для создания новых клинических рекомендаций по профилактике и лечению эпилепсии.

Таким образом, результаты настоящего исследования могут служить основой для разработки новых подходов к лечению и профилактике поражений головного мозга, возникающих у больных эпилепсией, особенно при развитии данной патологии в детском возрасте. Полученные данные открывают перспективы для применения нейропротективных средств в комплексной терапии эпилептических состояний и могут быть использованы при создании клинических рекомендаций для неврологов, нейрофармакологов и специалистов – эпилептологов.

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.

В результате проведенного исследования решена актуальная научная задача – охарактеризованы вклад нейровоспаления, повреждения и гибели нейронов гиппокампа в эпилептогенез и возможности его фармакологической коррекции.

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.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, в том числе 1 научная статья в издании из базы данных RSCI, 2 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук: 1 статья в издании, индексируемом в международной базе цитирования (Scopus), 2 публикация в сборнике материалов научной конференции.

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.

Замечания по работе

Диссертация Григоряна Миграна Самвеловича «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» по специальности 1.5.24. Нейробиология, представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, выполненную в Федеральном Государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» 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. Диссертация содержит 2 таблицы и 49 рисунков. В списке литературы 152 источника из которых, отечественных – 245, зарубежных – 127.

Во «Введении» показана актуальность проблемы и ее разработанность научным сообществом в текущий момент времени. Оно построено в соответствии с общими требованиями и включает обоснование актуальности темы диссертации.

степень обоснованности темы исследования, цель и задачи работы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, основные положения, выносимые на защиту, соответствие паспорту научной специальности, реализацию результатов работы, степень достоверности и апробацию результатов, сведения о публикациях. Описаны объем и структура диссертации.

В главе «Материалы и методы» показано разделение экспериментальных животных – самцов мышей линии СВА (вес 30–35 г; возраст 12 недель; n=340), на шесть групп: I группа – контрольная (n=20), которым вводили физиологический 0.9% раствор NaCl; II группа (n=110) – опытная (n=110), которым однократно вводили пентилтетразол в дозе 45 мг/кг для индукции судорог без предварительной терапии; III группа – опытная (n=90), которым вводили мирицетин, доза – 200 мг/кг, перорально (через зонд), в течение 5 дней, после чего вводили PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог; IV группа – опытная (n=80), которым вводили препарат сравнения – вальпроевую кислоту, доза – 100 мг/кг, интраперитонеально, в течение 5 дней, после чего вводили PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог; V группа – опытная (n=20), которым вводили мирицетин в дозе 200 мг/кг перорально (через зонд) в течение 5 дней, после чего вводили физиологический 0.9% раствор NaCl; VI группа – опытная (n=20), которым вводили вальпроевую кислоту в дозе 100 мг/кг интраперитонеально в течение 5 дней, после чего вводили физиологический 0.9% раствор NaCl. Анализ поведенческих реакций и изучение фрагментов головного мозга (гиппокампа) в нескольких временных точках: через 3 часа, 1 сутки, 3 суток, 5 суток после интраперитонеального введения пентилтетразола. Дизайн эксперимента соответствует поставленной цели и охватывает все задачи, поставленные в эксперименте.

Также представлены следующие методы: 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, координационных 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 β , ИЛ-6 и ФНО- α в сыворотке крови; 4) Морфологические: а) гистохимический (окраска по Нислю), б) иммуногистохимический (антитела к NeuN и антитела к Caspase 8); 5) статистические методы. Методы исследования достаточны и охватывают все поставленные автором задачи.

В главе «Результаты собственного исследования» показано:

- Поведенческих тестов с оценкой исходного поведенческого статуса для выявления признаков судорожной активности, а также результаты после пятидневного периода приема мирицетина и вальпроевой кислоты у подопытных животных, в которых дана оценка судорожной активности в исследуемых группах, показавшее, что, введение мирицетина и вальпроевой кислоты способствовало более быстрому восстановлению двигательной активности после воздействия PTZ, подтверждавшиеся улучшенными значениями пройденного расстояния по сравнению с группой введения только PTZ.

- Морфологического исследования в микропрепаратах головного мозга, и гиппокампа в частности, крашенных гематоксилином и эозином животных контрольной группы, позволившего наблюдать изменения гистоархитектоники вещества головного мозга и зон гиппокампа и его нейронного состава, степень дистрофических изменений нервной ткани в разных группах и выявить статистически достоверные различия изменений в контрольной группе и группах с использованием мирицетина и вальпроевой кислоты.

- Иммуногистохимическое исследование уровня каспазы-8 позволили обнаружить во II-ой группе значительные иммунохимические изменения в гиппокампе с использованием антител против каспазы-8 указывающие на снижение уровня нейронального апоптоза в группах, получавших мирицетин или вальпроевую кислоту с уровнем достоверности $p < 0.01$).

Результаты исследования получены самостоятельно, а их достоверность подтверждена с помощью широко применяемых в научных исследованиях методов статистического анализа.

В главе «Обсуждение полученных результатов» представлена дискуссия и подведен итог выполненной диссертационной работы. Установлено, что системные PTZ-индуцированные судороги у мышей приводят к значительным нарушениям нейрональных функций через 24 часа после судорог, которые нормализуются к 5-му дню эксперимента. Вероятно, нейрональная гибель происходит через внешний путь апоптоза, опосредованный активацией каспазы-8. Наибольшие отклонения в поведенческих тестах были зафиксированы через 3 часа после судорог, что указывает на предположительный критический период эпилептогенеза, требующий дальнейшего изучения. Значительное повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) через 24 часа после введения PTZ свидетельствует о мощной воспалительной реакции, которая была смягчена благодаря применению мирицетина и вальпроевой кислоты. Эти препараты также продемонстрировали выраженное антиоксидантное действие, что подтверждается снижением уровней маркеров оксидативного стресса (MDA) и восстановлением активности антиоксидантных ферментов (SOD и GSH). Иммуногистохимические данные, включая окрашивание NeuN и каспазы-8, подкрепляют защитные эффекты мирицетина и вальпроевой кислоты в предотвращении PTZ-индуцированного апоптоза нейронов. Улучшенные результаты в поведенческих тестах дополнительно подтверждают их нейропротекторный и терапевтический потенциал. Таким образом, мирицетин продемонстрировал значительные нейропротекторные свойства в условиях PTZ-индуцированных судорог, снижая воспаление, апоптоз и оксидативный стресс.

Итоги работы обоснованы и полностью раскрывают поставленную цель исследования.

Все экспериментальные главы написаны научным языком, материал изложен логично, подробно и четко.

В конце работы автор делает шесть выводов, соответствующих цели и задачам диссертационного исследования.

Практические рекомендации вполне обоснованы и вытекают из результатов работы.

Список сокращений позволяет компактизировать текст и делает восприятие более удобным.

Диссертация М.С. Григорян не вызвала принципиальных замечаний, однако хотелось бы обратить внимание на некоторые погрешности:

- недостаточно отображены преимущества использования химических соединений, обладающих антиоксидантной и противовоспалительной активности при лечении эпилепсии по сравнению с традиционными веществами, влияющими на процессы возбуждения и торможения нейронов:

- не указаны статистические программы используемые в проведении исследования и их правовой статус (лицензия, свободно - распространяемое ПО и пр.):

- не совсем удачное использование относительных формулировок о более или менее быстрому изменению характеристик исследуемых объектов. Желательно использование четких указаний во сколько раз изменился тот или иной показатель.

Тем не менее, вышеприведенные замечания не умаляют результатов работы и носят рекомендательный характер.

В ходе изучения диссертационной работы возник следующий вопрос:

1) Почему для исследования выбрали линию мышей СВА, которые не являются чистой линией грызунов с эпилептическими припадками?

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:

Начальник отдела симуляционных технологий
инженерно-физического института биомедицины
ФГАОУ ВО НИЯУ МИФИ,
доктор медицинских наук (3.1.24. Неврология)
Гуляев Сергей Александрович



ПОДПИСЬ

«09» апреля 2026 г.

Подпись д.м.н., С.А. Гуляева удостоверяю:
И.О. учёного секретаря ФГАОУ ВО НИЯУ МИФИ,
канд. юрид. наук, доцент Д.Л. Лозовский



ПОДПИСЬ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (ФГАОУ ВО НИЯУ МИФИ). Адрес: 115409, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31. Тел.: +7(495)788-5699. <https://mephi.ru/> E-mail: info@mephi.ru.



Подпись удостоверяю
Лозовский
отдела регистрации
и приказов НИЯУ МИФИ

В.М. Саморозова