

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Отлыги Дмитрия Александровича на тему «Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика каротидного клубочка человека», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Каротидный клубочек является небольшим органом, расположенным в области бифуркации общей сонной артерии. Считается, что он выполняет хеморецепторную функцию и участвует в регуляции деятельности дыхательной и сердечно-сосудистой систем. В связи с этим, многими авторами высказывалось предположение о взаимосвязи морфологических изменений в каротидном клубочке с такими заболеваниями, как синдром внезапной детской смерти, артериальная гипертензия, хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма и др. Каротидному клубочку стали придавать большую роль в патогенезе этих заболеваний, разрабатывая методы их лечения, в некоторых случаях направленные на удаление органа, в других – на коррекцию его функции.

Несмотря на длительную историю исследований, остаётся много вопросов о строении и функциях каротидного клубочка человека во внутриутробном периоде. К сожалению, большие ограничения на морфологические исследования накладывает быстрое развитие аутолитических изменений в органе, а также другие артефакты, возникающие в процессе приготовления препаратов. Кроме того, невозможно полноценное понимание функций каротидного клубочка без изучения его связей с симпато-адреналовой системой, к которой он принадлежит. Изменения синтеза и высвобождения катехоламинов каротидным клубочком, по-видимому, могут влиять на их содержание в плазме, что согласуется как с экспериментальными работами по гипоксии (A. Hui, 2003), так и с наблюдениями при опухолях каротидного клубочка (Strauss, 1983).

Отсюда возникает необходимость дальнейшего и более глубокого изучения эндокринной функции каротидного клубочка, которую многие исследователи зачастую упускают из вида, как противоречащую его роли периферического хеморецептора.

Таким образом, актуальность данной работы и ее прикладное значение в медицине очевидна.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе впервые охарактеризована экспрессия и распределение bIII-тубулина и тирозингидроксилазы в клетках каротидного клубочка эмбриона человека. Продемонстрированное высокое содержание тирозингидроксилазы к 8-ой неделе развития может свидетельствовать о возможной эндокринной функции органа в этот период.

Автором показано морфологическое и иммуногистохимическое сходство каротидного клубочка и органа Цукеркандля в антенатальном периоде. Это свидетельствует об общности их функций и происхождения.

Автор показал, что в антенатальном периоде в каротидном клубочке содержание тирозингидроксилазы и относительные размеры структур содержащих тирозингидроксилазу, выше, чем в постнатальном. Это может объясняться преимущественным выполнением эндокринной функции каротидным клубочком в антенатальном периоде, по сравнению с постнатальным.

Диссертант, впервые выполнив иммуногистохимическое исследование на эмбриональном и плодном человеческом материале, обосновывает предположение о компенсации недостаточности функции мозгового вещества надпочечников в антенатальном периоде каротидным клубочком (совместно с органом Цукеркандля).

В эксперименте автором показаны стабильные и нестабильные по отношению к аутолизу нейральные маркерные белки, что имеет значение при

проведении иммуногистохимических исследований на аутопсийном материале и непосредственно влияет на трактовку результатов.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Корректная постановка цели и задач исследования, достаточное количество образцов, взятых для исследования, число животных для экспериментальной части, применение статистических методов обработки материала являются сильными сторонами работы, позволившими сделать обоснованные и достоверные научные положения и выводы. Изучив данные отечественных и зарубежных учёных, подвергнув их критическому обзору, диссертант грамотно подобрал как классические, так и современные методы исследования в соответствии со своей целью и задачами. В обсуждении автор провёл сопоставление своих результатов с данными других исследователей и сделал достоверные выводы, не противоречащие полученным результатам.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты, полученные диссертантом, позволяют иначе взглянуть на роль каротидного клубочка в человеческом организме, выдвигая новую гипотезу о его функционировании в онтогенезе. Автор убедительно продемонстрировал сходство морфологии и иммуногистохимического профиля каротидного клубочка и органа Цукеркандля, что может говорить не только об их едином происхождении, но и о совместном их участии в синтезе катехоламинов во внутриутробном периоде. Впоследствии при созревании мозгового вещества надпочечника каротидный клубочек теряет эндокринную функцию и становится хеморецепторным органом, о чем говорит значительное снижение экспрессии тирозингидроксилазы. Эти данные важно учесть при разработке подходов к лечению заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Результаты эксперимента, направленного на изучение посмертных изменений тканей каротидного клубочка, а также данные о стабильных и

нестабильных иммуногистохимических маркёрах позволят рациональнее планировать взятие материала, применение тех или иных маркеров и избежать некоторых ошибок в анализе полученных данных.

Личный вклад автора очевиден. Отлыга Д.А. самостоятельно провёл анализ отечественных и зарубежных исследований, сформулировал цель и задачи, планировал все исследования и эксперименты, проводил гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследования гистологических препаратов каротидного клубочка, органа Цукеркандля и надпочечников. Диссертант самостоятельно произвел статистическую обработку полученных результатов, сопоставили свои данные с данными литературы. Выводы соответствуют задачам и результатам исследования.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Данные об общности происхождения и функциях каротидного клубочка и органа Цукеркандля, о постепенной смене функций каротидного клубочка с эндокринной в антенатальном периоде на хеморецепторную в постнатальном периоде параллельно с созреванием мозгового вещества надпочечника должны быть включены в материалы занятий по гистологии для медиков и биологов.

Результаты, указывающие на возможность сохранения некоторой эндокринной функции каротидным клубочком в постнатальном периоде, должны быть учтены в разработке подходов к лечению дыхательных и сердечно-сосудистых заболеваний.

Данные о посмертных аутолитических изменениях должны быть приняты во внимание при взятии материала для исследования, а данные о стабильных и нестабильных иммуногистохимических маркёрах следует учитывать при проведении иммуногистохимических исследований на

секционном материале, чтобы избежать ошибок в трактовке полученных результатов.

Общая оценка диссертационной работы

Диссертация изложена грамотным литературным языком. Обзор литературы содержит как современные, так и классические источники, отражает с должным вниманием различные точки зрения на проблему. Иллюстративный материал представлен таблицами и высококачественными микрофотографиями. Диссертация содержит корректные и в полном объеме отражающие содержание работы выводы. Их достоверность обусловлена достаточным объемом материала, а также грамотным применением различных методов исследования. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

По материалам диссертационной работы Отлыга Д.А. опубликовал 5 научных работ, в том числе 3 оригинальные статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук и учёной степени доктора наук. Материалы работы доложены и обсуждены на научных конференциях с международным участием.

Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет. Однако, возник ряд комментариев и вопросов, требующих уточнения:

1. В работе в качестве маркера клеток I типа и нервных окончаний использовали *поликлональные* антитела к bIII-тубулину, как показавшие наибольшую стабильность к аутолитическим изменениям. При этом, несмотря на общее использование bIII-тубулина как нейронального маркера, есть сообщения о его выявлении в нейроглии. В связи с этим возникает вопрос о возможном неспецифическом окрашивании этим маркёров клеток II типа? Кроме того, следовало бы уточнить – сколько

- срезом от каждого органа было взято для анализа соотношения окрашивания тирозингидроксилазы / bIII-тубулина?
2. Хотя тирозингидроксилаза является ключевым ферментом синтеза дофамина и её использование автором в качестве маркера синтеза катехоламинов полностью обосновано, вместе с тем, оценка секреции катехоламинов каротидным клубочком была бы более полной, если помимо соотношения TH/bIII-тубулин автор включил бы и оценку экспрессии везикулярных белков и транспортеров катехоламинов.
 3. Автором показана зависимость тинкториальных свойств цитоплазмы клеток I типа от аутолиза и продемонстрирована невозможность выделить их подтипы клеток при своевременной фиксации формалином, однако из обзора литературы осталось не ясным, на каком основании пикнотические клетки типа I отнесены в литературе к прогениторным? Есть ли у автора личные наблюдения касающиеся пролиферации клеток каротидного клубочка?
 4. В качестве замечания к оформлению укажу, что подписи осей на графиках следовало бы выполнить на русском языке, а указание в таблицах вычисляемых параметров с точностью до шестого знака представляется излишним.

Вместе с тем, высказанные замечания не влияют на безусловно положительную оценку работы.

Заключение

Диссертационная работа Отлыги Дмитрия Александровича на тему «Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика каротидного клубочка человека» является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – раскрыты особенности строения каротидного клубочка человека в антенатальном и постнатальном периодах развития, что имеет большое научно-практическое значение для гистологии, эмбриологии и нейроэндокринологии.

7