

**ОТЗЫВ**  
официального оппонента на диссертацию  
Хочанского Дмитрия Николаевича «Морфофункциональные изменения энтеральной нервной  
системы при экспериментальном остром и хроническом колите», представленную на  
соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 —  
клеточная биология, цитология, гистология.

**Актуальность темы выполненной работы**

Представленная диссертация посвящена изучению организации энтеральной нервной системы и анализу её морфофункциональных изменений при моделировании язвенного колита у мышей. Энтеральная нервная система - один из наиболее крупных и наименее полно охарактеризованных отделов нервной системы в норме и при патологии. Современные предположения об участии энтеральной нервной системы в патогенезе ряда неврологических заболеваний вызывают рост интереса нейроморфологов и нейробиологов к ее организации и функциям, в связи с чем была сформирована концепция «gut-brain axis» (кишечно-церебральной оси). Энтеральная нервная система играет основную роль в регуляции функций пищеварительной системы, она контролирует пролиферацию эпителиальных клеток, рефлекторную деятельность кишечника и участвует в модуляции иммунного ответа. Этиология воспалительных заболеваний кишечника, к которым относят язвенный колит и болезнь Крона, до настоящего времени изучена недостаточно.

В последнее время растет число работ, отмечающих мультифакторность воспалительных заболеваний кишечника, и подчеркивающих участие в патогенезе этих заболеваний энтеральной нервной системы. Несмотря на очевидный прогресс в такой относительно новой области исследований как «нейрогастроэнтерология», роль энтеральной нервной системы в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника недостаточно изучена. Разными авторами отмечаются изменения содержания медиаторов, электрофизиологических показателей, особенности пластической реакции нейронов и глиальных клеток. Одной из активно обсуждаемых тем является возможность и значение нейрогенеза в энтеральной нервной системе при воспалительных заболеваниях кишечника. При этом, публикации, посвященные реакции энтеральной нервной системы при язвенном колите, немногочисленны и противоречивы — например, разные авторы указывают как на уменьшение, так и на увеличение числа энтеральных нейронов при язвенном колите.

Морфофункциональные изменения энтеральной нервной системы при одной из часто применяемых, наиболее клинически и гистопатологически релевантных в настоящее время химических моделей язвенного колита на мышах, с использованием декстрансульфата натрия

слабо охарактеризованы современными нейроморфологическими методами. Важным представляется использование в представленной диссертационной работе современных методов иммуногистохимии и морфометрии с применением широкого набора маркеров нейронов и глиальных клеток, позволивших дать детальную морфологическую характеристику энтеральной системы ободочной кишки мышей в норме и при моделируемой патологии.

Таким образом, учитывая, что этиология язвенного колита неясна, а данные литературы не позволяют сделать однозначные выводы о роли энтеральной нервной системы в патогенезе этого заболевания, заявленная цель диссертационного исследования Хочанского Д.Н.: «охарактеризовать морфо-функциональную организацию энтеральной нервной системы ободочной кишки в норме и ее изменения при остром и хроническом колите, индуцированном дектрайсульфатом натрия у половозрелых самцов мышей C57Bl/6», несомненно актуальна.

#### Научная новизна работы

Методическую основу исследования составил комплекс морфологических методов — гистологического, ультраструктурного, иммуногистохимического и иммунофлуоресцентного анализа, в том числе с использованием конфокальной микроскопии. Отдельного упоминания заслуживают методы морфометрии и связанный с ней обработкой изображений, являющихся в значительной степени новыми, по меньшей мере, в применении к анализу структур энтеральной нервной системы. Эти подходы позволили получить новые, принципиально важные и достаточно полные представления об организации субмукозного и миентерального нервных сплетений ободочной кишки мышей C57Bl/6 в норме и при язвенном колите.

Так, в диссертационной работе автором представлены новые количественные данные о распределении нитрергических нейронов, распределении каспазы-3 в миентеральных ганглиях в норме и при моделировании язвенного колита. При остром язвенном колите показано снижение доли нитрергических нейронов и повышение в них экспрессии каспазы-3. На острой модели язвенного колита автором получены принципиально новые результаты - продемонстрирована компактизация миентерального сплетения, сопровождающаяся дегенеративными изменениями нервных трактов, в субмукозном сплетении показаны выраженные морфофункциональные изменения бета-3-тубулин позитивных волокон, увеличение количества S100b-позитивной глии. Морфологическая характеристика изменений энтеральной нервной системы при хроническом колите, так же представлена впервые — выявлен гиперплазия бета-3-тубулин позитивных волокон в циркулярном слое мышечной оболочки ободочной кишки, показаны различия реакции нейронов миентеральных ганглиев

дистального и медиального отделов ободочной кишки, обнаружено увеличение количества S100b-позитивных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки.

Таким образом, автором продемонстрировано соотношение процессов альтерации, функциональной перестройки и гиперплазии в нейрональной и глиальной популяциях при язвенном колите, причем, показано, что при хроническом колите преобладает гипертрофия и гиперплазия структур энтеральной нервной системы, а функциональные изменения нейронов менее выражены, чем при остром язвенном колите. Показано, что к наиболее ярким морфологическим изменениям приводят компактизация миентерального и субмукозного сплетений. Полученные в диссертационном исследовании результаты, несомненно, расширяют представления об организации энтеральной нервной системы в норме и при экспериментальном остром и хроническом колите.

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

Исследование проведено с использованием релевантной, ранее охарактеризованной в литературе модели язвенного колита с потреблением декстронсульфата натрия, задачи исследования сформулированы корректно, а выбранные для их реализации методы — современны и позволяют получить достоверные данные. Использованная в работе модель и группы лабораторных животных репрезентативны, детально охарактеризованы, и позволяют сделать заключение о высокой надежности результатов. Высокое качество имmunогистохимических препаратов, представленных в работе, обеспечено использованием современной техники для подготовки, обработки и исследования материала. В работе были использованы как гистологические срезы, так и тотальные препараты, что позволило автору наиболее полно отразить сложную морфологию исследуемых сплетений.

Выбор морфометрических показателей информативен и соответствует задачам, применявшиеся в работе методы морфометрии, включая полуавтоматический анализ, реализованы в широко распространенных программах, с использованием алгоритмов, охарактеризованных в литературе, что определяет корректность проведенных измерений. Использованные автором методы статистической обработки, морфометрических данных применены правильно и определяют достоверность полученных данных.

Глубокий анализ данных литературы и проведенное автором их критическое сопоставление с собственными результатами, позволяют заключить, что сформулированные автором выводы и научные положения диссертации репрезентативны.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на 10 всероссийских и международных конференциях.

## Значимость для науки и практической медицины полученных автором результатов

Результаты диссертационного исследования Д.Н. Хочанского расширяют современные представления о строении энтеральной нервной системы у мышей в норме и изменениях ее гистоархитектоники и морфофункционального состояния энтеральных нейронов и глиальных клеток при экспериментальном остром и хроническом колите, а сама работа является значимым вкладом в гастроэнтерологию и нейробиологию. Разработанные автором подходы к оценке энтеральной нервной системы могут быть использованы при изучении энтеральной нервной системы как у животных, так и у человека. Сведения о значительном нейропластическом потенциале энтеральной нервной системы ободочной кишки необходимо учитывать при изучении ее изменений при различных заболеваниях.

Материалы диссертационного исследования используются при чтении лекций на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Диссертация Хочанского Д.Н. построена по традиционному плану, содержит все необходимые главы и разделы и оформлена в соответствии с требованиями ВАК. Глава «Обзор литературы» представлена на 26 страницах и отражает актуальные представления о морфофункциональной организации и физиологии энтеральной нервной системы, и ее изменениях при воспалительных заболеваниях кишечника у человека и животных. Автором обобщены современные экспериментальные данные по моделям язвенного колита, по результатам анализа литературы обоснован выбор модели декстран-индуцированного язвенного колита и охарактеризованы наименее изученные аспекты реакции энтеральной нервной системы при воспалительных заболеваниях кишечника. В главе «Материалы и методы» представлен состав групп животных, достаточно подробно для воспроизведения описаны протоколы, материалы и методы исследования. Значительное внимание удалено автором методам обработки изображений и морфометрического анализа. Глава «Результаты собственных исследований» представлена на 102 страницах и помимо подробного, структурированного изложения результатов содержит цветные иллюстрации отличного качества, информативные таблицы и диаграммы, дающие полное представление о материале диссертационной работы. В главе «Обсуждение результатов исследования» автором дан критический анализ полученных данных и их сопоставление с данными литературы, для чего привлечены как классические, так и новейшие источники.

Диссертация изложена на 191 странице машинописного текста, содержит 18 таблиц, иллюстрирована 81 рисунком. Список цитируемой литературы включает 218 отечественных и зарубежных источников.

В автореферате и опубликованных работах отражены в полном объеме основные положения диссертации. По материалам работы опубликованы 15 печатных работ из них 4 статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук.

Корректное использование методов и соответствие их задачам исследования, внимание к деталям и применение адекватных методов статистической обработки определяют достоверность полученных результатов. Личный вклад соискателя несомненен и состоит в планировании и проведении экспериментов, разработке подходов к изучению энтеральной нервной системы и интерпретации полученных данных. Выводы основаны на большом фактическом материале, и логично вытекают из полученных лично автором результатов.

В целом, результаты диссертационного исследования изложены ясно и со вниманием к деталям, за исключением небольших погрешностей в оформлении. Однако при анализе диссертации у меня возникло несколько вопросов:

1. На с. 81 по данным визуального исследования распределения S100b-позитивных клеток указано, что на тотальных препаратах глии было «примерно столько же, сколько и нейронов». На мой взгляд, следует избегать подобных формулировок даже в качественных оценках, кроме того, приведенное в таблице 5, на стр. 95 глио-нейрональное отношение в миентеральном ганглии в контроле составляет от 0,49 до 0,71 в зависимости от отдела, что далеко от 1. Эта неточность провоцирует вопрос — насколько направление срезов и анизотропия структуры энтеральной нервной системы влияет на приведенные количественные результаты?
2. Хотелось бы уточнить, какую функциональную оценку автор дает обнаруженным при язвенном колите изменениям в миентеральном и субмукозном сплетении, причем особенный интерес на мой взгляд представляют выявленные различия в реакции разных отделов ободочной кишки, и каков их предполагаемый вклад в патогенез язвенного колита?

Тем не менее, эти замечания и комментарии не имеют принципиального значения и не снижают общего высокого качества работы.

### **Заключение**

Диссертация Дмитрия Николаевича Хочанского является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача — охарактеризована моррофункциональная организация энтеральной нервной системы ободочной кишки в норме и выполнена оценка ее изменений при остром и

хроническом колите, индуцированном дектрансульфатом натрия у половозрелых самцов мышей C57Bl/6.

Результаты диссертационного исследования имеют большое теоретическое и практическое значение для клеточной биологии, гистологии, цитологии, патологической анатомии, морфологии нервной системы, гастроэнтерологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Хочанского Дмитрия Николаевича «Мормофункциональные изменения энтеральной нервной системы при экспериментальном остром и хроническом колите», соответствует требованиямпп. 9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология.

Кандидат медицинских наук по специальности

03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология

старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфохимии отдела исследования мозга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», Москва, 125367, Волоколамское ш.80

8(495)916-34-72; 8(916)216-93-96; yoronkovdm@gmail.com

Воронков Дмитрий Николаевич

*ДН-*

Подпись Воронкова Д.Н. заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного

бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии»

к.м.н. Евдокименко А.Н.

