

О Т З Ы В

официального оппонента

на диссертацию Проценко Елены Васильевны,

«Морфогенез вентрикулярной герминативной зоны и неокортекса у

живо- и мертворожденных при гидроцефалии»,

представленную в диссертационный совет Д 208.094.01. при ГБОУ ВПО

«Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.

Разумовского» на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия

(медицинские науки)

Актуальность исследования

Целью работы Е.В.Проценко является изучение морфогенеза вентрикулярной герминативной зоны и неокортекса у плодов и новорожденных при вентрикуломегалии и гидроцефалии, обусловленной различными этиологическими факторами. Работа актуальна потому, что, во-первых, направлена на углубленное изучение такого относительно частого и недостаточно изученного порока развития головного мозга, как гидроцефалия. Во-вторых, Работа Е.В.Проценко позволяет более глубоко изучить герминативный матрикс и связанный с ним неокортекс на важных этапах развития полушарий головного мозга (при гестационном возрасте 22-40 недель). Структура головного мозга постоянно меняется в зависимости от срока беременности и изучена недостаточно. Нередко нормальные изменения созревающего мозга патологи принимают за патологию. Встречаются случаи, когда физиологическое расширение боковых желудочков принимают за гидроцефалию. Чрезвычайно важно, что автор применяет в своих исследованиях самые передовые морфологические методы – иммуногистохимию и электронную микроскопию. Материалом исследования являются умершие плоды и новорожденные при сроке гестации 22-40 недель.

Изучение герминативного матрикса важно не только для понимания морфогенеза гидроцефалии, но также для понимания развития головного мозга, в частности, процессов миграции, и возникновения других патологических процессов, прежде всего внутрижелудочковых кровоизлияний. В литературе имеются некоторые данные о состоянии герминативного матрикса в различных отделах боковых желудочков, но отсутствуют детальные сведения о его морфологических изменениях при гидроцефалии.

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

Диссертация изложена на 267 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, двух глав с изложением результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов и практических рекомендаций, иллюстрирована 73 рисунками, 27 таблицами. Литературный указатель включает 136 отечественных и 98 иностранных источников; преобладают работы опубликованные за последние 10 лет.

Обзор литературы (глава I) отражает основные этапы формирования вентрикулярной системы головного мозга в пренатальном онтогенезе, клинические аспекты гидроцефалии, о структуре вентрикулярной системы и 22-40 недель гестации, о патоморфологии гидроцефалии и этиологических факторах, способствующих формированию гидроцефалии. Приводятся классификации гидроцефалий, анализируются их причины, рассматриваются вопросы клинической диагностики гидроцефалии. Е.В.Проценко приводит данные о развитии и инволюции матрикса в зависимости от сроков гестации по данным иностранных авторов, причем противоречивые, и, к сожалению не ссылается на работы отечественных авторов (В.В.Власюк. Патология головного мозга у новорожденных и детей раннего возраста. М. «Логосфера», 2014).

В главе II «Материал и методы исследования» отмечается, что исследование проведено на головном мозге от 103 аутопсий плодов и новорожденных от 22 до 40 недель гестации. Выделены группы детей, детально описывается методика изучения боковых желудочков и исследования головного мозга. Диссертант выделяет подгруппы вентрикуломегалии и истинной гидроцефалии. Для визуализации ликворной системы Е.В.Проценко участвовала в разработке собственной методики и получила патент на изобретение. В рассматриваемой главе детально описываются методы нейростологического, иммуногистохимического (ИГХ), морфометрического и электронно-микроскопического исследований.

В главе III описываются результаты морфологических исследований в группе детей без расширения желудочковой системы. Описываются результаты электронно-микроскопического исследования ядер глиобластов вентрикулярной герминативной зоны (ВГЗ) и данные по ширине данной зоны во всех исследованных рогах боковых желудочков, причем в зависимости от гестационного возраста. Эти результаты являются новаторскими на мировом уровне. В литературе имеются общие данные о редукции матрикса в различных отделах боковых желудочков головного мозга, но столь подробные морфологические данные получены впервые. Подобным образом исследуется кора головного мозга соответствующих отделов. Весьма ценно, что Е.В.Проценко в своих исследованиях придерживается существующей классификации цитоархитектонических полей И.О.Бродмана. Приводятся результаты ИГХ-исследований коры и матрикса головного мозга в разные возрастные периоды. Показано, что физиологическая редукция вентрикулярной герминативной зоны и дифференцировка неокортекса взаимосвязаны с определенным иммуногистохимическим профилем изучаемых областей ЦНС. Данные исследования также являются новаторскими, углубляющими понимание процессов развития головного мозга.

Четвертая глава посвящена изучению морфологических изменений в ВГЗ и в неокортексе при вентрикуломегалии и гидроцефалии в период 22-40 недель гестации. Исследуются толщина ВГЗ, площадь поперечных сечений ядер глиобластов, диаметр сосудов матрикса, причем в разных подгруппах: при вентрикуломегалии и гидроцефалии. Указывается на связь гидроцефалии с пороками развития и генетическими дефектами. Детально описываются патологические изменения ВГЗ, эпендимоцитов, сосудов, клеток неокортекса. Приводятся подробные морфологические данные о поствоспалительной и постгеморрагической гидроцефалиях. В своих исследованиях Е.В.Проценко установила, что врожденная внутренняя гидроцефалия в зависимости от ее генеза характеризуется набором определенных морфологических признаков. При ИГХ-исследовании в частности, установлено, что при вентрикуломегалии интенсивность иммуноэкспрессии рилина в структурах неокортекса максимальна с 22 по 32 недели внутриутробного развития, т.е. во время наиболее активного формирования гисто-, цитоархитектоники коры (22-27 недели) и редукции ВГЗ. Выявлены достоверные признаки отличий индекса экспрессии матриксной металлопротеиназы-9 в группах сравнения. Показаны особенности экспрессии протеина S-100, рилина, MMP-9, виментина, десмина в структурных компонентах головного мозга живо- и мертворожденных в 22-40 недель гестации при гидроцефалии. ИГХ-исследования позволили выявить некоторые особенности экспрессии изучаемых факторов при вентрикуломегалии и гидроцефалии различного происхождения. Установлено, что при вентрикуломегалии по сравнению с условной нормой достоверно уменьшается синтез виментина и десмина в сосудах ВГЗ, что является фактором, указывающим на замедление созревания гладкомышечного и соединительнотканного компонентов сосудистой стенки. Показана зависимость экспрессии виментина, десмина и MMP-9 от происхождения гидроцефалии. Следовательно, полученные

результаты ИГХ-исследований могут помочь в диагностике этиологии гидроцефалий.

Глава V посвящена обсуждению полученных результатов. Проводится сопоставление полученных результатов с данными других исследований, обобщение полученных результатов и выводов. Результаты исследований Е.В.Проценко позволили уточнить некоторые закономерности гестационных преобразований мозговой паренхимы и выявить их особенности при вентрикуломегалии и внутренней гидроцефалии (с учетом этиологии), а также позволили уточнить инициальные механизмы формирования врожденной гидроцефалии и разработать дифференциально-диагностические критерии таковой с вентрикуломегалией.

Степень научной новизны и достоверность результатов

В диссертации Е.В.Проценко разработано важное научное направление в патологической анатомии плодов и новорожденных – изучение морфологии развития герминативного матрикса и неокортекса при гидроцефалии. Работа потребовала изучения различных структурных изменений головного мозга в норме, поскольку исследования в этом направлении малочисленны и фрагментарны. Многие патологи при исследовании плодов и новорожденных не знают нормальную гистоструктуру изучаемых отделов головного мозга, поскольку она плохо изучена и плохо представлена в научной и учебной литературе. Весьма ценными представляются разработанные Е.В.Проценко морфологические критерии дифференциальной диагностики между вентрикуломегалией и гидроцефалией, которые ранее в таком объеме не использовались. Иммуногистохимические исследования с определением экспрессии протеина S-100, рилина, MMP-9, виментина и десмина в изучаемых структурах вообще являются новаторскими. Важным моментом новизны является также то, что в работе проводится параллельное исследование коры соответствующих полей и субэпендимального матрикса,

поскольку эти отделы имеют непосредственную связь, прежде всего обусловленную миграцией нейробластов в кору.

Диссертация выполнена на достаточном аутопсийном материале, охватывающим весь изучаемый период развития. Головной мозг исследован у 103 умерших плодов и новорожденных с гестационным возрастом 22-40 недель. Е.В.Проценко участвовала в разработке оригинальных методов исследования, подтвержденных четырьмя патентами на изобретения. Проведено комплексное морфологическое исследование герминативного матрикса и неокортекса во всех отделах боковых желудочков, причем на относительно большом отрезке развития мозга с выделением четырех периодов этого развития. Используются самые современные морфологические методы – нейрогистологический, иммуногистохимический и электронно-микроскопический. Столь обширные и всесторонние исследования ранее не предпринимались. Достоверность результатов, полученных диссертантом, не вызывает сомнений.

Практическая ценность работы.

Диссертация Е.В.Проценко имеет очевидную практическую направленность. Предложенные методики исследования и изучения головного мозга, изложенные в патентах, данные по гистологической картине в коре и матриксе в норме, при гидроцефалии и воспалительных процессах, разработанные дифференциально-диагностические критерии вентрикуломегалии и гидроцефалии могут быть использованы в практике патологоанатомических отделений.

Однако, несмотря на имеющиеся многочисленные достоинства работы, в ней обнаруживаются и отдельные недостатки, которые серьёзно не влияют на представленные выводы и результаты. Можно сделать следующие замечания и задать некоторые вопросы.

1. Автор работы пишет, что проводила вскрытие черепа по методу Э Эрнстеровски и Г Шперль-Зейфридовой хотя метода с таким

названием не существует, способ вскрытия черепа с образованием «окон» общеизвестен, описан ранее данных авторов, в том числе в отечественном руководстве (3-й том) по патологической анатомии детского возраста (1960). Правда в работе указанных авторов дано одно из наиболее детальных описаний, как надо вскрывать череп у плодов и новорожденных. Кстати, в приведенной книге 223 страницы, а не 218, как указано в библиографии.

2. Автор пишет, что иссекала кусочки, захватывающие эпендиму, кору и промежуточную зону, размерами 0,5x0,5 см. Полагаю, что такие кусочки, особенно у доношенных детей, могут иметь один из размеров более 0,5 см.
3. В описании методики гистохимического исследования в таблице 1 (с. 72) хромоген описывается с использованием русского и английского алфавита: ДАВ (следовало написать ДАБ или DAB).
4. Автор допускает многочисленные орфографические и стилистические неточности. Так, во всей диссертации слово дилатация пишется почему-то как «дилятация» (после буквы Л пишется буква Я), хотя в автореферате данная ошибка отсутствует.
5. В таблице 2 приводятся данные о площади ядер «глиобластов ВГЗ», в том числе в графе детей с гестационным возрастом 38-40 недель из передних рогов и тел боковых желудочков, хотя в таблице 3 указанная ширина равна «0», что следует понимать как отсутствие глиобластов в этой зоне. Как можно объяснить указанное противоречие между таблицами? То же относится к таблице 4, в которой даются диаметры сосудов ВГЗ, в том числе у детей с гестационным возрастом 38-40 недель, при котором матрикс в указанных отделах полностью редуцировался.
6. Автор в литературном обзоре приводит данные о выделении в матриксе разных групп клеток (4-х). В своих электронно-микроскопических исследованиях совместно с В.П.Тумановым я обнаруживал и описал

два вида клеток матрикса. В то же время Е.В.Проценко описывает только «глиобласты ВГЗ», как будто в матриксе присутствует только этот один вид клеток. Возникает вопрос, обнаруживала ли Е.В.Проценко при электронно-микроскопическом исследовании разные типы клеток в матриксе?

7. Известно, что в матриксе имеются не только глиобласты, родоначальники астроглии и олигодендроглии, но и нейробласты. Процесс миграции на сроке 22 недели беременности не завершается, поэтому следует предполагать наличие нейробластов в ВГЗ. Диссертант называет все клетки матрикса глиобластами. Не правильнее ли их называть нейроэпителиальными клетками, родоначальниками (клетками-предшественниками) нейробластов и глиобластов?
8. В литературном обзоре основное внимание уделено различным аспектам гидроцефалии, что вполне обосновано. Однако хотелось бы иметь больше литературных данных по морфологическим исследованиям матрикса, его сосудистой системы, развитию клеток, процессах пролиферации и миграции, иммуногистохимическим исследованиям головного мозга детей. Диссертант изучает неокортекс, формирование которого непосредственно связано с миграцией нейробластов из матрикса.
9. Нет подробного описания изменений в коре при сроках гестации 33-37 и 38-40 недель. Ничего не сказано о молекулярном слое коры в эти возрастные периоды.
10. На стр. 141 Е.В.Проценко пишет о подтвержденной иммуногистохимическим методом «ДНК-вирусной инфекции». Следует подчеркнуть, что такой инфекции в мире не существует. Имеются сыворотки для ИГХ-диагностики только конкретных вирусных инфекций. Вероятно, это опечатка.
11. Как известно, имеются исследования М.Е.Васильевой, в которых разрабатывались критерии дифференциальной диагностики

вентрикуломегалии и гидроцефалии. Хотелось бы уточнить, в чем новизна и приоритет данной работы по сравнению с исследованиями М.Е.Васильевой. В чем заключается личный вклад автора диссертации в работах, написанных совместно с М.Е.Васильевой?

12. Номера страниц в оглавлении не всегда совпадают с нумерацией в тексте: название главы III в тексте на 75 странице, в оглавлении – на 73 с., название IV главы в тексте на 105 странице, в оглавлении – на 103 с.

Отмеченные недостатки не снижают высокого качества исследования, хороший стиль и грамотность написания работы, они не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, описанные выше. Результаты исследования Е.В.Проценко оригинальны, обладают научной новизной мирового уровня и практической значимостью для детской патологической анатомии, педиатрии и акушерства, демонстрируют вклад автора в области теории и практики патологической анатомии. Это характеризует соискателя как вполне сложившегося исследователя, умеющего самостоятельно ставить и решать сложные научные задачи в области современной медицины и патологической анатомии.

Заключение.

Диссертационная работа Е.В.Проценко «Патоморфология гидроцефалии у новорожденных с экстремально низкой массой тела» является глубоким научным исследованием, в результате которого разработано новое научное направление в патологической анатомии - изучение морфологии развития герминативного матрикса и неокортекса при гидроцефалии. Выводы, практические рекомендации, научные положения, выдвинутые автором, вытекают из существа изложенного материала, подтверждены результатами полученными в ходе исследования.

Подводя общий итог, необходимо заключить, что новые научные результаты, полученные диссертантом имеют существенное значение для

