

ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего патологоанатомическим отделением
ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени
академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, доктора медицинских наук, профессора, Щеголева Александра
Ивановича на диссертацию Толокольниково Василия Александровича на тему
«Морфофункциональные преобразования матки и яичников при
алиментарном дефиците магния (экспериментальное исследование)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия

Актуальность исследования

Диссертационная работа В.А. Толокольниково посвящена изучению
патоморфологических изменений матки и яичников при экспериментальном
моделировании алиментарного дефицита магния и их фармакологической
коррекции. Современные исследования подтверждают важную роль дефицита
магния при многих соматических и гинекологических заболеваниях, а также в
развитии акушерских осложнений. В этой связи актуальной проблемой
является выявление особенностей морфологических изменений матки и
яичников при недостаточности магния, определяющих патогенез ряда
осложнений и заболеваний, в частности, нарушений менструального цикла,
развития предменструального синдрома, обострения экстрагенитальной
соматической патологии у женщин, судорожных состояний, бесплодия,
нарушений течения беременности и родов. Важность поиска структурных
закономерностей патоморфоза магни-дефицитных состояний в условиях
экспериментального моделирования обусловлена отсутствием знаний о
специфическом клиническом симптоматическом комплексе при магни-
дефицитных состояниях.

Влияние недостаточности магния на патоморфологические
преобразования в матке и яичниках в научной литературе описаны, к
сожалению, фрагментарно, без четкой систематизации. Молекулярные

механизмы метаболизма магния в органах репродуктивной системы во многом регулируются белками семейства transient receptor potential melastatin (TRPM6 и TRPM7), обеспечивающих селективный перенос в клетки двухвалентных катионов (в первую очередь, ионов магния и кальция). Однако роль их в развитии повреждений и активации компенсаторных механизмов в матке и яичниках при недостаточности магния является мало изученной. В связи с этим цель настоящего исследования - выявление морфофункциональных закономерностей изменений матки и яичников в условиях дефицита магния и его коррекции является актуальной.

Научная новизна исследования

Автором впервые при помощи комплекса гистологических, гистохимических, иммуногистохимических методов исследования с использованием автоматизированного морфометрического анализа на репрезентативном экспериментальном материале проведено изучение морфофункциональных преобразований в матке и яичниках и выявлены особенности морфогенеза алиментарного дефицита магния в высокоспециализированных структурах матки и яичников у крыс. Показано, что наиболее значимыми являются изменения, обусловленные нарушениями микроциркуляции с преимущественным поражением эпителиальных структур яичников и эндометрия, в миометрии же преобладают десмопластические процессы с поражением стенок спиральных артерий. При помощи иммуногистохимических методов исследования автором установлено увеличение уровня цитоплазматической экспрессии биомаркеров TRPM6, TRPM7, а также особенности изменений маркеров апоптоза - Bcl-2 и Bax. В экспериментах по фармакологической коррекции магнием дефицитного состояния доказана эффективность применяемых препаратов и показаны особенности морфологических изменений матки и яичников крыс в зависимости от вида применяемой соли.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Диссертация В.А. Толокольниковой имеет практическую значимость для работы врача-патологоанатома с позиции разработки методов дифференциальной морфологической диагностики микроэлементозов, а также для диагностики структурных изменений в органах женской репродуктивной системе, специфичных для магний дефицитных состояний. Полученные данные необходимо использовать как для дальнейшего исследования влияния недостаточности микроэлементов на репродуктивную систему, так и разработки методов фармакологической коррекции магний дефицитных состояний.

Апробация работы и внедрение результатов в практику

Материалы диссертационной работы представлены в 10 печатных научных работах, в том числе 5 из них в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также в виде докладов на научных и научно-практических конференциях, в том числе с международным участием. Основные результаты работы использованы в педагогическом процессе на кафедре патологической анатомии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также внедрены в практическую работу ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», патологоанатомических отделений Клиники №1 ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Негосударственного учреждения здравоохранения «Отделенческая клиническая больница на станции Волгоград-1 открытого акционерного общества «Российские железные дороги», ГКУЗ Волгоградского областного патологоанатомического бюро.

Достоверность полученных результатов и выводов диссертации

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основываются на достаточном количестве исследований с использованием современных методик изучения патогистологических структур тканей матки и яичников в исследуемых группах. В соответствии с поставленными задачами разработана экспериментальная модель, проведено экспериментальное исследование, выполнено комплексное гистологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое и программное компьютерное морфометрическое исследование материала. Анализ полученных данных проводился с использованием статистических методов исследования, а именно оценивалась нормальность распределений, как измерений показателей по отдельным животным, так и показателей по группам, с применением рангового однофакторный дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса в сочетании с апостериорными критериями Дана, непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Таким образом, результаты, полученные автором можно рассматривать как достоверные и значимые. Выводы логично и закономерно вытекают из содержания работы.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена на 200 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав с результатами собственного исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 91 рисунком, 38 таблицами.

Первая глава состоит из двух частей и посвящена обзору литературы. В первой части главы приводятся данные о биологическом значении магния на морфофункциональное состояние женской половой системы, с акцентом на роль магний-зависимых механизмов, лежащих в основе поддержания нормального функционирования репродуктивной системы. Во второй части главы автором проводится анализ современных фактов и теорий об особенностях развития функциональных нарушений и структурных изменений

в матке и яичниках при недостаточности магния, что логично подводит к необходимости использования выбранной автором стратегии исследования.

Глава «Материалы и методы исследования» состоит из четырёх подглав, в которых представлено описание модели алиментарного дефицита магния и его фармакологической коррекции у экспериментальных крыс. Примечательно, что исследование проводилось совместно с сотрудниками кафедры фармакологии Волгоградского медицинского университета и Волгоградского медицинского научного центра. Автором подробно описаны экспериментальные группы (шесть) животных: интактные самки, самки находившиеся на магнийдефицитной диете в течение 12 недель, самки, которые находились на магнийдефицитной диете 12 недель, а с 9-й по 12-ю неделю получали перорально через зонд 50 мг/кг массы тела алиментарного магния в виде магния сульфата, магния аспарагината, магния таурината и магния хлорида (3-я группа, 4-я группа, 5-я группа и 6-я группа).

В отдельных подглавах представлено описание методов качественного и количественного морфологического и иммуногистохимического исследования, а также особенности статистической обработки и анализа полученных данных.

В третьей главе «Результаты собственных исследований», состоящей из пяти подглав, рассмотрены структурно-функциональные особенности изменений в матке и яичниках в условиях развития дефицита магния, описаны особенности экспрессии биомаркеров клеточного метаболизма магния и процессов апоптоза.

Автором продемонстрирована экспрессия гомологичных белков TRPM 6 и TRPM 7, являющихся каналами-киназами, в клетках эпителия и стромы эндометрия, в миометрии и яичниках крыс. Поскольку белок TRPM 6 считается высокоселективным магниевым каналом и важным элементом магниевого гомеостаза, исследование его экспрессии в матке и яичниках крыс при магнийдефиците является важным вкладом в исследование морфогенеза данного элементоза. Учитывая, что белок-канал TRPM7 участвует в регуляции

клеточного цикла и процессов повреждения, необходимо подчеркнуть значимость обнаружения изменения уровня его экспрессии для понимания механизмов регенерации в матке и яичниках при моделировании алиментарного дефицита магния.

Отдельные подглавы посвящены описанию морфофункциональных изменений в матке, яичниках и сравнительному анализу с использованием статистической обработки результатов морфометрического исследования, структурных изменений в матке и яичниках при моделировании алиментарного дефицита магния и его фармакологической коррекции. Пятая подглава посвящена особенностям иммунофенотипической характеристики матки и яичников крыс при развитии алиментарной недостаточности магния. Результаты полученных исследований продокументированы микрофотографиями и таблицами, что подтверждает их объективность. Вместе с тем, отсутствие отдельных заключений в подглавах несколько затрудняет анализ полученных результатов по каждому этапу исследования.

В разделе «Обсуждение полученных результатов» автор проводит обобщение и сопоставление полученных результатов с данными литературы. Приведенный в диссертации анализ собственных результатов с данными современной научной литературы по изучаемой проблеме позволил сформулировать положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации, основанные на комплексном анализе качественных и количественных морфологических изменений в матке и яичниках при дефиците магния и его коррекции, что определяет ценность и новизну исследования В.А. Толокольниковой

Следует отметить, что в диссертации большое внимание уделено иммуногистохимическому анализу повреждений высокоспециализированных структур матки и яичников: изменению экспрессии биомаркеров TRPM6, TRPM7, Bcl-2 и Bax, что позволило автору убедительно говорить о некоторых механизмах развития магниевых дефицитных состояний.

Достоинством работы является использование автоматизированного морфометрического анализа, при котором было произведено несколько тысяч измерений, что определяет объективность проделанной работы. Таким образом, на основании представленного объема морфометрических данных можно говорить о репрезентативности исследования и возможности экстраполяции результатов на генеральную совокупность.

В целом же построение работы отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Автореферат представлен на 24 страницах машинописного текста и полностью отражает порядок написания и содержание диссертационной работы. Полученные результаты позволили автору сформулировать семь выводов, которые соответствуют задачам исследования. Список литературы содержит 184 источника, в том числе 97 - отечественных авторов и 87 – зарубежных.

Принципиальных замечаний по работе В.А. Толокольниковца нет. В качестве пожелания следует рекомендовать делать промежуточные заключения в подглавах об отдельных этапах исследования и более четко отразить наиболее эффективный препарат, используемый для коррекции. Для дальнейших исследований можно предложить исследование пролиферативной активности, факторов роста и металлопротеиназ, регулирующих процессы регенерации и фиброза.

Заключение

Диссертационная работа Толокольниковца Василия Александровича «Морфофункциональные преобразования матки и яичников при алиментарном дефиците магния (экспериментальное исследование)» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему и содержащей решение важной задачи современной патологической анатомии - оценки морфофункциональных изменений в матке и яичниках при экспериментальном моделировании алиментарного дефицита магния и его

коррекции. По актуальности, научной новизне, объему, методическому уровню проведенных исследований, их теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Толокольников В.А. «Морфофункциональные преобразования матки и яичников при алиментарном дефиците магния (экспериментальное исследование)» соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 - патологическая анатомия.

Официальный оппонент:

заведующий патологоанатомическим отделением

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии

имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации

доктор медицинских наук

профессор

Щеголев Александр Иванович

117997, г. Москва,

Ул. Академика Опарина, дом 4

(495) 438 28 92

ashegolev@oparina4.ru

Подпись профессора А.И. Щеголева заверяю

Ученый секретарь ФГБУ «Научный центр

акушерства, гинекологии и перинатологии

имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации

к.м.н., доцент

С.В. Павлович

Сведения
об официальном оппоненте
по диссертации В.А. Толокольников «Морфофункциональные преобразования матки и яичников при алиментарном дефиците магния (экспериментальное исследование)»
по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

№ п/п	Фамилия Имя Отчество	Год рожде- ния Граж- данство	Место основной работы, адрес ме- ста работы, теле- фон, email	Ученая степень, шифр, спе- циальность	Ученое звание	Шифр спе- циальности в совете и отрасль науки	Основные работы по про- филю диссертации
1.	Щеголев Алек- сандр Иванович	1961 Россия	заведующий пато- логоанатомиче- ским отделением ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и пе- ринатологии име- ни академика В.И. Кулакова» Мини- стерства здраво- охранения Россий- ской Федерации 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, дом 4 (495) 438 28 92 ashegolev@oparina4.ru	доктор ме- дицинских наук, спе- циальность: 14.03.02 – патологиче- ская анато- мия	Профессор по кафедре патологиче- ской анато- мии	Специаль- ность 14.03.02 - патологиче- ская анато- мия, меди- цинские науки	1. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы в ворсинах плаценты бере- менных с преэклампсией/ Дубова Е.А., Павлов К.А., Ляпин В.М., Щёголев А.И., Сухих Г.Т.// Бюллетень экспериментальной биоло- гии и медицины. 2012. Т. 154. № 12. С. 761-765. 2. Состояние микроцирку- ляторного русла и водного метаболизма денервирован- ной печени при интоксика- ции тетрахлорметаном./ Цибулевский А.Ю., Дубо- вая Т.К., Щеголев А.И., Эт-

						тингер А.П., Поскребышева Е.А., Баранич Т.И. //Вестник Российского государственного медицинского университета. 2013. № 1. С. 49-53. 3. Роль дендритных клеток и паттерн-распознающих рецепторов в развитии патологии беременности./ Низяева Н.В., Дубова Е.А., Кан Н.Е., Щеголев А.И., Сухих Г.Т. //Успехи современной биологии. 2014. Т. 134. № 6. С. 563-572. 4. Экспрессия каспаз в терминальных ворсинах плаценты при спонтанной и индуцированной беременности. / Дубова Е.А., Павлов К.А., Александрова Н.В., Баев О.Р., Щёголев А.И., Сухих Г.Т. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 158. № 7. С. 103-
--	--	--	--	--	--	--

						107. 5. МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии. / Низяева Н.В., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Ломова Н.А., Наговицына М.Н., Прозоровская К.Н., Щёголев А.И. // Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. № 4 (70). С. 484-492. 6. Сигнальный путь notch в плаценте человека при физиологически протекающей и осложненной беременности. / Павлов К.А., Дубова Е.А., Щёголев А.И. // Акушерство и гинекология. 2015. № 2. С. 5-11. 7. Интерстициальные пейсмейкерные клетки. / Низяева Н.В., Марей М.В., Сухих Г.Т., Щёголев А.И.// Вестник Российской академии медицинских наук.
--	--	--	--	--	--	--

							2014. № 7-8. С. 17-24. 8. Гипоксия как причина мертворождаемости в Рос- сийской Федерации. / Ще- голев А.И., Туманова У.Н., Шувалова М.П., Фролова О.Г. // Здоровье, демогра- фия, экология финно- угорских народов. 2014. № 3. С. 96-98.
--	--	--	--	--	--	--	--

Официальный оппонент доктор медицинских наук, профессор

А.И. Щеголев

Подпись профессора А.И. Щеголева заверяю

Ученый секретарь ФГБУ «Научный центр
 Акушерства, гинекологии и перинатологии
 Имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России
 К.м.н., доцент

С.В. Павлович