

## ОТЗЫВ

официального оппонента

**Лукьяновой Людмилы Дмитриевны, чл.-корр. РАН, д.б.н., профессора, засл.д.н.,**  
на диссертационную работу **Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе»**, представляемую на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Диссертационная работа **Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе»** представляет собой комплексное исследование, посвященное важнейшей фундаментальной проблеме **нейробиологии, акушерства и перинатологии** – действию пренатальной гипоксии на функцию мозга и развитие ребенка. Гипоксия плода является одним из самых часто встречающихся осложнений при беременности и родах, влияющих на уровень мертворождаемости, неонатальной и младенческой смертности, на физическое, эмоциональное и когнитивное развитие ребенка и может привести к формированию инвалидности и снижению качества жизни в целом. Тканью-мишенью у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, является мозг. Однако, несмотря на то, что вопросам, касающимся механизмов гипоксических воздействий в онтогенезе, в настоящее время посвящена большая литература, систематизация и концептуальное осмысление зачастую противоречивых данных, полученных с помощью разнообразных моделей ишемии и гипоксии и в различные периоды пре- и перинатального онтогенеза, отсутствуют. Остается открытым и такой чрезвычайно важный вопрос, как вклад и роль стресс-реакции, развивающейся в материнском организме, в ответной реакции на тяжелые внешние гипоксические воздействия. Решение всех этих вопросов, требующее изучения механизмов ответной реакции на пренатальную гипоксию как на системном, так и на клеточном и субклеточном уровнях, имеет первостепенное **теоретическое и практическое** значение и необходимо для разработки методологии диагностирования поражений мозга у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию-ишемию, а также поиска подходов к лечению гипоксии плода. Поэтому проведение данной работы следует считать своевременным, целесообразным и **актуальным**.

Диссертационная работа написана в традиционном варианте и состоит из Введения, Обзора литературы, Методов исследования, Экспериментальной части, Обсуждения, Заключение и Выводов.

В огромном обзоре литературы изложены современные представления о роли ведущих внутриклеточных регуляторных сигнальных систем в формировании



патологических и адаптивных реакций нейронов мозга. Автором диссертационной работы собран и проанализирован очень большой материал, доказывающий, что тяжелая гипоксия в пренатальном периоде приводит к развитию патологических состояний центральной нервной системы взрослых животных, которые проявляются в изменении поведения и способности к обучению этих животных и которые обусловлены изменениями активности основных систем внутриклеточной регуляции – кальциевой, фосфоинозитидной, а также модификации глутаматергической сигнальной трансдукции в наиболее чувствительных к кислородному голоданию структурах мозга – гиппокампе и неокортексе. Обзор литературы характеризует автора диссертационной работы как высококвалифицированного эрудированного специалиста-биолога, способного к анализу теоретических и практических вопросов молекулярной физиологии. Несомненно, что обзор позволил определить круг вопросов, легших в основу собственных экспериментальных исследований.

Диссертационная работа базируется на огромном оригинальном экспериментальном материале, полученном диссертантом на моделях разного функционального уровня (молекулярном, клеточном, системном), и использует обширный и самый современный методический арсенал. Экспериментальная часть работы посвящена четырем аспектам действия тяжелой пренатальной гипоксии на развитие организма в раннем постнатальном периоде: а) на соматические, сенсомоторные, и двигательные реакции; б) на функциональную активность мозга (эмоциональное, исследовательское поведение, память, способность к обучению взрослых крыс); в) на состояние молекулярных мишеней гипоксии в мозге крыс (фосфоинозитидной и кальциевой систем, а также соотношение про- и антиоксидантных систем и раскрытие их роли в ранний постнатальный период; г) на установление роли кортикостероидов, в этом процессе, как маркеров стрессорной компоненты.

Наиболее значимые результаты, полученные в диссертационной работе:

1. Подтверждение существования в пренатальном периоде развития критических периодов, («окон уязвимости»), определяющих повреждающее действие тяжелой гипоксии, которое проявляется в постнатальном периоде как на системном, так и на клеточном и субклеточном уровнях, уточнение их временных границ.
2. Получение доказательств, что у крыс наиболее опасным является применение тяжелой гипоксии в начале третьей недели пренатального онтогенеза, т.е. в период, когда происходит активный нейрогенез в различных областях развивающегося мозга, включая неокортекс и гиппокамп. В этом случае тяжелая гипоксия способствует развитию в мозге крыс структурно-функциональных нарушений в центральной нервной системе,



длительной (в течение 3 месяцев) активации фосфоинозитидной системы и облегчению механизмов входа  $\text{Ca}^{2+}$  в клетки, которое может усугубить развитие  $\text{Ca}^{2+}$  - опосредованных эксайтотоксических состояний, а также изменению соотношения про- и антиоксидантных систем в сторону первых, что, в свою очередь, приводят к развитию патологических состояний центральной нервной системы (нарушению способности к обучению, изменению толерантности нейронов мозга к последующим неблагоприятным воздействиям среды у взрослых животных).

3. Получение доказательств вовлечения под влиянием тяжелой гипобарической гипоксии, предъявляемой в период пренатального онтогенеза, гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы, повышения стрессореактивности и нарушения ее регуляции по принципу отрицательной обратной связи у самок, что приводит к длительным модификациям экспрессии глюко- и минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе.

Совокупность полученных экспериментальных данных о молекулярных процессах, лежащих в основе изменений поведения и способности к обучению крыс, вследствие перенесенной пренатальной гипоксии вносит существенный вклад в развитие современных представлений о механизмах повреждения мозга.

Диссертационная работа **Тюльковой Е. И.** выполнена на очень хорошем современном методическом уровне, позволившем решить задачи комплексного исследования. Диссертантом изучались особенности соматического развития и формирования сенсомоторных и моторных реакций потомков крыс, подвергавшихся во время беременности воздействию гипоксии, оценивались различные аспекты их поведенческих реакций и способности к обучению. Были применены радиоиммунологические методы для определения содержания глюкокортикоидных гормонов (кортикостерон) в крови экспериментальных животных. Проведены гистохимические исследования, определение содержания фосфоинозитидов (фосфатидилинозитол-4,5-дифосфатов), фосфатидилинозитол-4-фосфатов и фосфатидилинозитидов, а также уровня и динамики содержания связанного внутриклеточного кальция ( $\text{Ca-c}$ ) (спектрофотометрически с помощью кальций-чувствительного флуоресцентного индикатора хлортетрациклина). Изучалась динамика изменений различных компонентов перекисного окисления липидов в гиппокампе и неокортексе (спектрофотометрическое определение содержания диеновых и триеновых конъюгатов, флюориметрическое измерение оснований Шиффа, определение индекса Клейна, спектрофотометрическое определение продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой).



Все это свидетельствует о том, что диссертант является методистом высочайшего класса.

**Дискуссионные вопросы и замечания по диссертационной работе.**

- В диссертационной работе отсутствует обоснование выбора гипоксической модели (трехкратный трехчасовой подъем животных в барокамере на критическую высоту – 11000м). Трудно представить, чтобы в реальной жизни организм мог бы попасть в такие условия. Правильнее было бы использовать в качестве повреждающего гипоксического воздействия однократное его применение.

- Нет также данных о количестве погибших при подъеме на критическую высоту животных, что принципиально, так как выжившая популяция может состоять только из высоко толерантных к гипоксии животных, механизмы адаптации которых отличаются от низко толерантных.

- Спорным является применение глюкокортикоида дексаметазона для моделирования стрессорной компоненты, так как никто не знает, сравнимо ли по интенсивности его действие с тем, которое реализуется при гипоксии и которое реально влияет на функцию нейрона. Чтобы вычлениить эффекты кортикостероидов, правильнее было бы использовать ингибитор этой системы. Таким образом, с моей точки зрения, ответ на вопрос о том, в какой степени наблюдающиеся при повреждающих гипоксических/ишемических воздействиях во время беременности изменения обусловлены собственно гипоксическим фактором, а в какой - неспецифической стрессовой реакцией матери, остается невыясненным.

В то же время полученные в работе данные об отрицательных эффектах дексаметазона следует активно публиковать, так как они имеют принципиальное практическое значение в связи с применением этого препарата в акушерстве.

- В обзоре литературы целесообразно было бы иметь заключение, которое служило бы обоснованием целей и задач исследования. Правильнее было бы также анализировать полученные экспериментальные результаты по разделам, а не в конце работы, что существенно облегчило бы восприятие материала.

- Ряд выводов носят слишком общий, констатирующий характер.

- Имеются редакционные упущения. Так, например, не выверена рубрификация работы (отсутствуют подразделы 3.4, 3.5, 3.6.).

Все эти замечания не влияют на общую оценку работы.

В целом представленная на защиту диссертационная работа Тюльковой Е.И. является самостоятельным законченным оригинальным научно-практическим исследованием, впервые раскрывающем ряд принципиально новых и важных механизмов

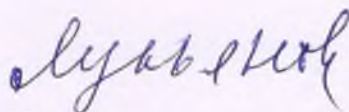


сигнальной регуляции адаптивных процессов в мозге вследствие перенесенной пренатальной гипоксии, а также устанавливающим их взаимосвязь с нейрогормональной системой и структурно-морфологическими особенностями нейрона. Исследование вносит существенный вклад в развитие современных представлений о механизмах повреждения развивающегося мозга. Достоверность и обоснованность полученных данных не вызывает сомнения. Основные результаты работы отражены в 106 публикациях, 33 из которых – ведущие научные рецензируемые журналы.

Автореферат отражает содержание диссертационной работы, написан логично, хорошо проиллюстрирован, свидетельствует о профессионализме автора.

По актуальности темы, адекватности экспериментальных подходов, объему исследований, значимости полученных результатов, работа **Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе»** соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ему искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

Руководитель отдела патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»  
Зав лаборатории биоэнергетики и проблем гипоксии  
ФГБНУ «НИИОПП»  
Член-корреспондент РАН,  
Засл. деят. науки РФ,  
профессор, д.б.н.



Лукьянова Людмила Дмитриевна

Email: ldlukyanova@gmail.com

Подпись Лукьяновой Л.Д. заверяю  
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИОПП»,  
канд.мед.наук




Скуратовская Л.Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (ФГБНУ «НИИОПП»),  
125315, Москва, ул. Балтийская, 8  
Телефон: 8(499)151-17-56  
Email: niiopp@mail.ru