

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора
ЧУЯН ЕЛЕНЫ НИКОЛАЕВНЫ

на диссертационную работу СТУПИНА ВИКТОРА ОЛЕГОВИЧА
«Роль серотонинергической и дофаминергической систем в регуляции
сердечного ритма нелинейных крыс», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.5. – Физиология человека и животных

Актуальность диссертационной работы

Диссертационная работа В.О. Ступина посвящена исследованию роли серотонинергической и дофаминергической систем в регуляции сердечного ритма. Согласно традиционным представлениям, вариабельность сердечного ритма (BCP) является результатом сложного взаимодействия влияний блуждающих и симпатических нервов на сердце. В этой связи методы анализа BCP нашли широкое применение для оценки вегетативного гомеостаза организма. Большинство авторов, использующих методы анализа BCP, ориентируются на двухконтурную модель Р.М. Баевского, в которой активность автономного контура регуляции связывается с парасимпатическими влияниями, а центрального контура – с симпатическими влияниями на водитель ритма сердца. Однако вопрос о природе вариабельности кардиоинтервалов и роли нервных и гуморальных механизмов в ее формировании продолжает оставаться дискуссионным. Очевидно, это обусловлено тем, что в регуляторные процессы вовлечены многие другие медиаторы и нейрогормоны, в том числе серотонин и дофамин. Интерес к их эффектам в ЦНС и на периферии в последние десятилетия заметно возрос. Установлено наличие рецепторов к серотонину и дофамину в миокарде и гладких мышцах сосудов, на терминалях холинергических и норадренергических волокон. Немало работ показывает изменение в работе сердца после введения веществ, комплементарных к серотониновым и дофаминовым рецепторам. Однако работ фундаментального характера, посвященных комплексному анализу изменений BCP при

воздействии на центральные и периферические серотонинергические и дофаминергические механизмы регуляции, практически отсутствуют.

В этой связи диссертационная работа В.О. Ступина, посвященная экспериментальному исследованию роли серотонинергических и дофаминергических механизмов регуляции в формировании вариабельности сердечного ритма, обладает актуальностью и несомненной теоретической и практической значимостью. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна исследования Ступина В.О. состоит в комплексном изучении роли серотонинергических и дофаминергических механизмов и их взаимодействия с холинергическими и адренергическими влияниями в формировании ВСР.

Впервые в условиях трех состояний (спокойное бодрствование, наркозный сон и острый стресс) показано, что на фоне стимуляции серотонинергических и блокаде дофаминергических центральных и периферических структур формируется менее вариабельный ритм, на фоне блокады серотонинергических и стимуляции дофаминергических центральных и периферических структур – более вариабельный ритм сердца.

Автором доказано модулирующее влияние периферических и центральных серотонинергических и дофаминергических механизмов на проявления эффектов блокады холино- и адренорецепторов в отношении ЧСС и вариабельности кардиоинтервалов.

Впервые показано, что антагонистические воздействия на периферические серотониновые рецепторы частично компенсируют эффекты стимуляции и блокады центральной серотонинергической системы, воздействия на периферические дофаминовые рецепторы на фоне стимуляции и блокады центральной дофаминергической системы преимущественно снижают вариабельность ритма сердца.

На основе полученных данных автором впервые выдвинуто предположение, что серотонинергические механизмы реализуют влияния на уровне автономного контура регуляции, дофаминергические механизмы – на уровне центрального контура регуляции ритма сердца.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость результатов диссертационной работы Ступина В.О. заключается в расширении представлений о механизмах регуляции ритма сердца и роли в этом процессе серотонинергической и дофаминергической систем, их участии в функционировании центрального и автономного контуров регуляции ритма сердца, модуляции парасимпатических и симпатоадреналовых влияний. Полученные данные дополняют теоретические основы методов анализа вариабельности кардиоинтервалов, а также расширяют представления об участии серотонин- и дофаминергических механизмов в регуляции висцеральных функций.

Следует подчеркнуть не только фундаментальное, но и важное прикладное значение выполненной работы. Практическая значимость работы состоит в получении результатов, которые позволяют уточнить и дополнить физиологические интерпретации показателей ВСР при различных состояниях организма, в том числе в состоянии стресса и наркозного сна, т.е. связанных с изменениями активности важнейших нейромедиаторных систем, что имеет значение для экспериментальной физиологии и практической медицины.

Материалы диссертации используются в учебном процессе при изучении физиологии человека и животных и проведении учебно-производственных практик в Астраханском государственном университете.

Оценка достоверности и обоснованности положений, выносимых на защиту, результатов и выводов диссертации

Достоверность результатов работы определяется большим объемом проведенных исследований и полученных данных, применением современных и адекватных методов исследования и статистической обработки данных, что определило обоснованность научных положений, выносимых на защиту,

заключений и выводов. Положения, выносимые на защиту, и выводы диссертации четко сформулированы, обоснованы, отвечают на поставленные цель и задачи и отражают существо полученных результатов.

Достоверность результатов подтверждается достаточным числом наблюдений, выполненных в экспериментах на 162 самцах нелинейных крыс, четко разработанным дизайном исследования, использованием сертифицированных фармакологических субстанций для воздействия на нейромедиаторные системы. Для регистрации и анализа ВСР диссертант применил современное сертифицированное оборудование: аппаратно-программный комплекс «Варикард» и программу для обработки кардиоинтервалов и анализа кардиоинтервалограмм «ИСКИМ6» (Рамена, Россия). Все методы исследования современны, их применение обосновано и полностью соответствует поставленной цели и задачам.

Статистическая обработка результатов проведена в программах Excel (Microsoft Office 2003) и STATISTICA 10.0. Статистическая значимость оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни, корреляционного анализа. Автором собран и корректно проанализирован большой массив данных, фактические результаты полно представлены в таблицах и на рисунках.

Обоснованность выводов диссертации базируется на глубоком анализе полученных данных с привлечением работ отечественных и зарубежных авторов, с ориентиром на известные научные теории о природе ВСР. Автором разработаны две оригинальные концептуальные схемы, ставшие итогом анализа собственных данных в купе со значительным объемом научных источников.

Основные результаты диссертационного исследования обсуждались на международных и отечественных научных конференциях, опубликованы в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень международных реферативных баз данных и систем цитирования ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Общая характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа В.О. Ступина изложена на 166 страницах машинописного текста и построена по традиционному плану, включает все необходимые разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, три главы с изложением собственных результатов, обсуждение результатов, заключение и выводы. Список литературы включает 271 источник, из них на русском языке – 157, английском – 114. Материалложен логично, в соответствии с задачами работы и дизайном исследования. Работа хорошо оформлена, проиллюстрирована 20 таблицами и 17 рисунками.

Во введении автором дано обоснование актуальности темы исследования, сформулированы цель и задачи, которые соответствуют теме работы, Автором изложены видение научной новизны, теоретической и практической значимости работы, личный вклад автора, апробация результатов, сформулированы положения, выносимые на защиту, которые отвечают цели и задачам исследования.

Первая глава диссертационной работы является обзором литературы и содержит современные представления о вариабельности сердечного ритма и ее физиологической природе, принципах анализа ВСР, природе каждого из компонентов спектра ВСР. Значительная часть обзора посвящена роли серотонин- и дофаминергических систем в регуляции функций организма. Обзор написан чётко, логично и касается почти всех аспектов, которые автор использует при проведении экспериментальной работы. Следует отметить большой объем проанализированных данных современных отечественных и зарубежных исследований. Обзор литературы носит аналитический характер с обоснованием необходимости решения не исследованных проблем, на основании этого автор обосновывает актуальность диссертационного исследования.

Во второй главе автором подробно описаны методические подходы и методы исследования, что занимает важное место в данной работе в связи с большим объемом экспериментального материала. Приведен дизайн

экспериментов, позволяющий понять, как автор планировал решать поставленные задачи. Следует отметить комплексный подход к исследованиям. В главе подробно описаны воздействия на периферические и центральные серотонинергические и дофаминергические структуры с помощью специфических препаратов, обоснованы их дозы. Методики описаны подробно и их выбор обоснован целью и задачами исследования. Описана методика регистрации ЭКГ и анализа ВСР у крыс в трех функциональных состояниях: спокойное бодрствование, наркозный сон и острый стресс. Автором были соблюдены биоэтические принципы при работе с лабораторными животными. Необходимо подчеркнуть четко продуманную организацию экспериментов: в каждой серии экспериментов была контрольная группа, что позволяет исключить влияние посторонних факторов на результаты эксперимента.

В работе использовано соответствующее оборудование (аппаратно-программный комплекс «Варикард») и программное обеспечение (ИСКИМ6), позволившее получить массив данных, достаточный для анализа и выявления закономерностей. Материал обработан адекватными цели исследования методами статистики (использована программа Statistica 10.0), что не вызывает сомнения в достоверности полученных результатов.

Использование данных методов дает возможность качественно и количественно оценить роль серотонинергической и дофаминергической систем в регуляции сердечного ритма экспериментальных животных. В целом методический уровень работы соответствует современным требованиям к научным исследованиям.

Собственные результаты автором изложены в трех достаточно емких главах, каждая завершается обобщающими формулировками.

В 3-й главе диссертант представил результаты исследований ВСР при воздействии на периферические серотониновые и дофаминовые рецепторы. Установлено, что во всех экспериментальных сериях наименее вариабельный ритм формируется на фоне введения серотонина и блокатора дофаминовых

рецепторов, более вариабельный ритм – при введении дофамина и блокатора серотониновых рецепторов.

В 4-й и 5-й главах изложены результаты исследований ВСР при воздействии на центральный уровень серотонинергической и дофаминергической систем соответственно. Автором показано, что на фоне стимуляции серотонинергической системы формируется менее вариабельный, а на фоне блокады серотонинергической системы – более вариабельный ритм сердца. В случае с дофаминергической системой – более вариабельный ритм формируется при ее стимуляции и менее вариабельный – при блокаде, но рост ЧСС наблюдается в обоих случаях. В работе проанализированы особенности изменений ВСР при блокаде холино- и адренорецепторов, в состоянии наркозного сна и острого стресса в условиях воздействий на центральный уровень серотонинергической и дофаминергической систем. Автором отмечено, что при воздействии на серотонинергические структуры в большей степени изменяется мощность LF-волн, при воздействии на дофаминергические структуры – мощность VLF- и LF- волн спектра ВСР. Характер изменений ВСР позволил предполагать, что периферические и центральные серотониновые и дофаминовые механизмы модулируют активность парасимпатических и симпатоадреналовых влияний на ритм сердца. Полученные многочисленные результаты структурированы в таблицы и хорошо иллюстрированы.

Следует отметить, что результаты изложены очень подробно и в ряде мест дублируются с обсуждением результатов.

Результаты исследования подробно обсуждены в 6-й главе. Она представляет собой анализ всех полученных данных с привлечением отечественных и зарубежных научных источников по изучаемой проблеме. Автором проведено сопоставление изменений ВСР при воздействии на серотонинергические и дофаминергические структуры центрального и периферического уровня, собственные данные соотнесены с данными других авторов. Несомненным достоинством работы является сравнение комплекса изменений ВСР во время стресса на фоне блокады периферических и

центральных звеньев серотонин- и дофаминергической систем, что свидетельствует в пользу представлений о стресс-лимитирующей роли этих систем в организме. Автором дается интерпретация полученных в ходе настоящей работы данных. При обсуждении автор отмечает как сходство со сведениями библиографических источников, так и указывает на противоречия, если таковые имеются.

Заключение работы содержит разработанные автором концептуальные схемы, показывающие возможную роль серотонин- и дофаминергических механизмов в формировании ВСР, что является важным итогом проделанной работы и основным содержанием заключения диссертации. В процессе трактовки результатов диссертант опирается на представленные в литературе точки зрения относительно рассматриваемых вопросов, а также высказывает собственную гипотезу о механизмах влияния серотонин- и дофаминергической систем на ВСР. Автор полагает, что влияния центральных серотонинергических механизмов в основном реализуются на уровне автономного контура регуляции, центральных дофаминергических механизмов – на уровне центрального контура регуляции ритма сердца.

Выводы диссертации четко сформулированы, обоснованы представленным экспериментальным материалом, резюмируют полученные данные и полностью соответствуют поставленным задачам. Положения, вынесенные на защиту, соответствуют выводам, вполне обоснованы и отражают суть полученных результатов.

Оформление диссертации и автореферата

Диссертационная работа логично построена, отличается единством изложения, написана стилистически грамотно, однако содержит некоторые пунктуационные ошибки. Изложение сопровождается многочисленными корректными ссылками на литературные источники.

Автореферат отражает основное содержание диссертационной работы, содержит основные положения и выводы, соответствует требованиям ВАК.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах соответствует требованиям. Материалы диссертации полностью опубликованы в открытой печати. По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований.

Вопросы и замечания для дискуссии

Оценивая в целом диссертационную работу положительно, следует остановиться на некоторых вопросах и замечаниях, которые нуждаются в пояснениях.

1. С какой целью в работе использовали блокаторы холино- и адренорецепторов? Почему не использовали адреналин и ацетилхолин?

2. Во второй главе диссертации в разделе «Статистическая обработка данных» указано, что «сопряженность изменений параметров ВСР в условиях примененных воздействий оценивали с помощью корреляционного анализа». При этом нет указаний на метод расчета коэффициента корреляции (линейный коэффициент корреляции или коэффициент ранговой корреляции). В описании результатов исследований данные корреляционного анализа упоминаются лишь вскользь, в обсуждении результатов исследования вовсе не используются. Однако анализ изменения коэффициентов корреляции между параметрами ВСР позволил бы выявить изменения зависимости между переменными, направленность и силу связи в условиях примененных воздействий.

3. В диссертационном исследовании оценка результатов дается для «среднего животного». Такой подход позволяет выявить основные тенденции, но нивелирует индивидуальные различия, однако хорошо известно, что всегда можно обнаружить особей устойчивых и сенситивных к действию различных воздействий, в том числе и стресс-факторов. В частности, установлена индивидуальная чувствительность и устойчивость человека и животных к факторам химической и физической природы, экстремальным факторам среды, эмоциональному, болевому, иммобилизационному стрессам, которые были использованы в данном исследовании. Одной из причин различной

чувствительности животных к действию раздражителей являются особенности нейрохимической организации головного мозга, что проявляется в специфическом распределении биогенных аминов в различных структурах мозга у устойчивых, чувствительных и адаптирующихся к стрессу животных. Индивидуальные различия ВСР в покое позволяют прогнозировать предрасположенность организма к различным воздействиям. В частности, широко используется в экспериментальной физиологии определение индивидуально-типологических особенностей ВСР на основании разных значений стресс-индекса (индекса напряженности), выделяя нормотонический, ваготонический и симпатотонический типы вегетативной регуляции. Подобное разделение экспериментальных животных на группы, вероятно, позволило бы установить индивидуально-типологические особенности ВСР у животных при воздействии на центральный и периферический отделы серотонин- и дофаминергической систем как в условиях спокойного бодрствования, так и в состоянии наркозного сна и острого стресса, что, безусловно, внесло определенный вклад в понимание механизмов влияния серотонин- и дофаминергической систем на ВСР.

Следует отметить, что указанные замечания и вопросы являются дискуссионными и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Ступина Виктора Олеговича «Роль серотонинергической и дофаминергической систем в регуляции сердечного ритма нелинейных крыс» является законченной, самостоятельно выполненной научно-исследовательской работой, в которой на основании экспериментальных исследований разработаны теоретические положения и сформулированы выводы. По актуальности, объему проведённых исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости настоящая диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени

кандидата наук (пп. № 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г., № 335), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Заведующий кафедрой физиологии человека и животных и биофизики Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор



Чуйян Елена Николаевна

Адрес места работы: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295007, Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, д. 4, тел.: +7 (3652) 63-75-46; сайт: <https://cfuv.ru/>; e-mail: cf_university@mail.ru

