

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»
академик Г.А. Софронов



30.09.2015

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Тюльковой Екатерины
Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний
мозга на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических
наук по специальности 03.03.01 – физиология

Диссертационная работа Е.И. Тюльковой посвящена изучению патологических изменений деятельности мозга, вызванных воздействием тяжелой гипоксии в пренатальном периоде развития, что относится к одной из актуальнейших проблем современной нейробиологии и медицины.

Актуальность темы исследования, обоснованность и достоверность результатов

Представленная работа посвящена исследованию одной из фундаментальных проблем нейробиологии, связанной с изучением патологических изменений деятельности мозга, вызванных воздействием тяжелой гипоксии. Пренатальный период развития является одним из наиболее чувствительных к повреждающим средовым воздействиям периодов онтогенеза. Гипоксия плода, возникающая по различным причинам, оказывает крайне неблагоприятное влияние на развивающийся организм, проявляясь часто в течение всей последующей жизни в нарушениях функционирования различных систем организма, в первую очередь, головного мозга. Несмотря на огромный интерес исследователей и

клиницистов к проблеме гипоксии плода, механизмы ее влияния на формирование головного мозга во многом остаются не выясненными, что подчеркивает актуальность диссертационной работы Е.И. Тюльковой. Актуальность данного направления исследований обусловлена и необходимостью глубокого понимания механизмов формирования патологических нарушений деятельности мозга, необходимого для разработки различных способов коррекции повреждающего влияния гипоксии в пренатальном онтогенезе на развитие организма.

Эффекты пренатальной гипоксии не всегда соотносятся со степенью ее тяжести. Первостепенное значение имеют сроки онтогенеза, в которые произошло воздействие. В течение пренатального и раннего постнатального онтогенеза выделяют несколько критических периодов, когда организм и, в особенности, мозг становятся более восприимчивыми к неблагоприятным воздействиям, а негативные последствия таких воздействий наиболее значимы. До сих пор недостаточно изучены возрастные границы этих периодов. В своем исследовании Е.И. Тюлькова придает особое значение выявлению критических периодов пренатального онтогенеза, наиболее уязвимых к гипоксическому воздействию, приводящему к длительным нарушениям поведения и способности к обучению, обусловленным модификациями нейрогормональной регуляции и активности внутриклеточных регуляторных систем.

В диссертации представлен комплексный анализ нарушений соматического развития, поведенческих характеристик и способности к обучению, модификаций работы нейроэндокринной системы, кальциевой и фосфоинозитидной систем внутриклеточной регуляции, соотношения про- и антиоксидантных систем на разных стадиях постнатального онтогенеза крыс, подвергавшихся действию тяжелой гипоксии на 14-16-е и 17-19-е сутки пренатального периода развития. Кроме того, необходимо учитывать, что гипоксия опосредует свое влияние на плод через организм матери и плаценту. При остром недостатке кислорода запускается целый каскад

эффектов, включающих выброс стрессовых гормонов в кровь матери и структурно-функциональные изменения в материнской и фетальной частях плаценты. Для прояснения этого вопроса в работе проведено сопоставление эффектов гипоксии и введения беременным самкам синтетического глюкокортикоида дексаметазона, которое служит общепринятой моделью пренатального стресса. Изучение эффектов дексаметазона на пренатальное развитие актуально еще и по той причине, что этот синтетический глюкокортикоид интенсивно применяется в медицинской практике, в том числе у беременных женщин, в частности, при угрозе прерывания беременности.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Важной особенностью работы Е.И. Тюльковой является сочетание различных методов исследований поведения с современными методами молекулярной биологии, что дает возможность изучать нейробиологические корреляты нарушений развития мозга и приблизиться к пониманию механизмов возникновения патологий когнитивной и эмоциональной сферы, обусловленных воздействием неблагоприятных факторов в раннем онтогенезе. С применением комплексного подхода убедительно показано, что тяжелая гипобарическая гипоксия в пренатальном периоде развития приводит к устойчивым нарушениям двигательного, эмоционального, исследовательского поведения и способности к обучению, в основе которых лежат структурно-функциональные нарушения в центральной нервной системе, проявляющиеся на молекулярно-клеточном уровне. При этом впервые выявлены сходство и различия в эффектах действия тяжелой гипобарической гипоксии и введения синтетического глюкокортикоидного гормона дексаметазона, предъявляемых в различные сроки пренатального онтогенеза крыс.

Впервые проведен экспериментальный сравнительный анализ особенностей нарушения внутриклеточных молекулярных и гормональных механизмов мозга крыс (изменения активности ГГАС, характера иммунореактивности кортикостероидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе, активности фосфоинозитидной и кальциевой системы внутриклеточной регуляции, соотношения про- и антиоксидантных систем мозга крыс), вызываемых воздействием тяжелой гипоксии в последнем триместре беременности или введением в те же сроки эндогенного гормона – дексаметазона. Обнаружено, что отдаленные последствия влияния гипобарической гипоксии, более выражены, если ее воздействие приходится на начало третьей недели гестации, возрастной интервал, включающий период, когда происходит активный нейрогенез в различных областях развивающегося мозга, включая неокортекс и гиппокамп. Сопоставление данных о влиянии гипоксии и введения дексаметазона в различные сроки пренатального онтогенеза обнаруживает как сходства, так и различия последствий этих воздействий у взрослых животных. Совокупность полученных сведений о молекулярных процессах, лежащих в основе изменений поведения и способности к обучению крыс, вследствие перенесенной пренатальной гипоксии, позволила сформулировать обоснованные выводы диссертационного исследования и внести существенный вклад в развитие современных представлений о механизмах повреждения незрелого мозга.

Значимость полученных соискателем результатов для науки и практической деятельности

Теоретическая значимость работы связана, в первую очередь, с расширением современных представлений о механизмах нарушений функций мозга, вызываемых тяжелой гипоксией в пренатальном периоде.

Практическая ценность работы определяется клинической необходимостью разработки новых способов диагностики пренатальных

патологий и поиску эффективных путей повышения общей резистентности организма. Полученные результаты на молекулярно-клеточном уровне могут быть использованы при создании нового поколения эффективных фармакологических препаратов, оказывающих направленное действие на ключевые звенья повреждающих механизмов.

Результаты, полученные в диссертации, могут быть использованы при чтении курсов лекций по физиологии и нейрохимии.

Структура и содержание работы.

Диссертация построена по классическому образцу: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, заключение, выводы и список литературы. Диссертация изложена на 283 страницах печатного текста, иллюстрирована 64 рисунками и 11 таблицами. Список литературы включает 101 русских и 577 иностранных источников.

Во введении обосновывается актуальность проведенного исследования, сформулированы цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения выносимые на защиту.

Обзор литературы полно отражает историю вопроса и современное состояние проблемы. Приводится описание современных представлений о молекулярно-клеточных механизмах повреждения мозга взрослых животных в результате воздействия тяжелой гипобарической гипоксии, а также известных механизмов этого воздействия на развивающийся мозг.

Глава Материалы и методы исследования содержит подробное описание экспериментальных животных и способы манипуляций с ними, описаны молекулярно-биологические, морфологические и поведенческие методы исследования. Богатый арсенал методов, которыми владеет автор, позволяет провести всестороннее комплексное исследование, согласно поставленным задачам.

В главе Результаты подробно изложены данные собственных исследований автора, свидетельствующие о нарушении соматического и сенсомоторного развития крысят, перенёсших гипоксию или введение дексаметазона в пренатальном онтогенезе, изменении различных форм поведения и способности к обучению у взрослых животных в зависимости от срока беременности, когда применялось воздействие. Приведены данные о влиянии пренатальной гипоксии на активность гипофиз-адренокортикальной системы, а также экспрессию глюко- и минералокортикоидных рецепторов в структурах мозга, ответственных за регуляцию этой гормональной оси. Представлены результаты исследований состояния фосфоинозитидной системы и активность глутаматергической сигнальной трансдукции мозга крыс, перенесших пренатальную гипоксию, влияние гипоксии на активность инозитол-3-фосфатного рецепторного комплекса, уровень перекисного окисления липидов и экспрессию пептидных антиоксидантов в мозге. Проведено сравнение патологического действия гипоксии в пренатальном онтогенезе и введения в те же сроки развития искусственного глюкокортикоида дексаметазона. Результаты исследования хорошо иллюстрированы, статистически обработаны и их достоверность не вызывает сомнений.

Обсуждение результатов, представленное в соответствующем разделе диссертации, проведено с привлечением современных данных литературы и достаточно полно охватывает весь пакет полученных результатов.

Завершается диссертационная работа Заключением, где подводятся итог проделанной работы и намечены перспективы клинического применения полученных данных. Выводы работы полностью обоснованы полученными результатами исследования.

Вместе с тем, после ознакомления с работой остается ряд вопросов и замечаний:

Первое положение, выносимое на защиту, сформулировано неудачно.

Так вначале говорится, что «... гипоксия ... оказывает выраженное влияние на ... эмоциональное поведение...», а далее «Введение дексаметазона ... *в отличие от гипоксического воздействия* вызывает также изменения эмоционального поведения крыс ...». Где отличие и в чем оно? Две фразы противоречат друг другу, самое главное, представляется, что все положение не нуждается в защите, так как данный факт давно вошел даже в учебную литературу.

Второе положение - «Изменения поведения и способности к обучению крыс... коррелируют с устойчивыми модификациями экспрессии глюко- и минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе этих животных» – Оставляет неясным, как коррелируют показатели – прямо или обратно!

Для оценки достоверности результатов в работе использовался серьезный арсенал статистических методов, однако, оценить адекватность применения методов математической статистики не представляется возможным, поскольку автор не указывает, какой именно статистический критерий использовался в каждом конкретном случае.

Сделанные замечания не снижают высокой оценки рассматриваемой диссертационной работы. Все результаты, представленные в работе, получены лично автором либо при непосредственном его участии, что подтверждается опубликованными статьями в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, и апробацией результатов на международных и российских конференциях.

Заключение.

Учитывая совокупность представленных в работе материалов, диссертация Е.И. Тюльковой представляет собой многостороннее, фундаментальное исследование, которое вносит значительный вклад в

раскрытие ключевых внутриклеточных механизмов, участвующих в регуляции функциональных процессов мозга после пренатального воздействия гипоксии. Диссертация Екатерины Иосифовны Тюльковой на тему "Механизмы формирования патологических состояний мозга на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе", является законченной научно-квалификационной работой, в которой сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение, имеющее принципиальное значение для нейрофизиологии. Полученные автором результаты достоверны, заключение и выводы обоснованы. Автореферат верно отражает основное содержание диссертации.

Диссертация Екатерины Иосифовны Тюльковой на тему "Механизмы формирования патологических состояний мозга на воздействие в гипоксии в пренатальном онтогенезе" соответствует предъявляемым к докторским диссертациям требованиям "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01. "Физиология".

Отзыв на диссертацию и автореферат составлен заведующим Физиологическим Отделом имени И.П. Павлова и Лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга доктором медицинских наук, профессором В.М. Клименко 30.09.2015.

Заведующий Физиологическим отделом имени И.П. Павлова и Лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга ФГБНУ "ИЭМ" д.м.н., профессор
В.М. Клименко

(812)2349937;
klimenko_victor@mail.ru



СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Полное название: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Институт экспериментальной медицины"

Сокращенное название: ФГБНУ "ИЭМ"

Адрес: 197376 Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12

Телефон : 7(812)234-6868;

FAX: 7(812)234-9489

E-mail: iem@iemrams.ru

<http://iemrams.spb.ru>