

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе» представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук в специализированный Диссертационный Совет Д 002.020.01 по присуждению ученой степени доктора наук при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность темы диссертационной работы Е.И. Тюльковой не вызывает сомнений, поскольку она посвящена изучению механизмов, лежащих в основе реакции организма на неблагоприятные воздействия в пренатальном периоде развития. Результаты медико-социальных, клинических и лабораторных исследований причин возникновения отклонений в развитии детей позволяют предположить важную роль в этом процессе средовых факторов, влияющих на ребенка во время внутриутробного периода его развития. При этом одним из ведущих факторов неблагоприятного течения беременности является гипоксия. Внутриутробная гипоксия плода и асфиксия новорожденного, во многом определяющие уровень неонатальной патологии, являются актуальной проблемой акушерства и перинатологии. В структуре заболеваемости новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, одно из важных мест занимает перинатальное поражение мозга и нарушение нервно-психического развития ребенка.

Наряду с гипоксией важную роль в формировании внутриутробной патологии может играть глюкокортикоидная терапия, широко применяемая в настоящее время при существовании риска преждевременных родов. Кроме того, при некоторых заболеваниях во время беременности используются противовоспалительные, противоаллергические свойства глюкокортикоидов. Наибольший терапевтический эффект дает прием синтетических глюкокортикоидов – дексаметазона, бетаметазона, дексазона и др. В настоящее время у специалистов нет единого мнения относительно безопасности применения глюкокортикоидных препаратов при беременности. В экспериментах на животных показано, что введение беременным самкам глюкокортикоидов ускоряет созревание плода, особенно его легких, что может рассматриваться в качестве адаптивной реакции, направленной на подготовку плода к преждевременным родам при попадании матери в условия стресса. Вместе с тем, в целом ряде исследований было обнаружено, что глюкокортикоиды могут отрицательно влиять на рост и развитие плода, особенно неблагоприятное действие они оказывают на головной мозг и нервную систему. Однако, механизмы такого действия пока не до конца выяснены.

Основу современных представлений об онтогенетических закономерностях формирования адаптивных и патологических состояний мозга составляют теории критических периодов раннего развития. Результаты многочисленных исследований отечественных и зарубежных авторов свидетельствуют, что неблагоприятные условия и стресс в период внутриутробного развития вызывают целый комплекс функциональных и структурных изменений в центральной нервной системе плода, которые часто носят необратимый характер. Понимание механизма подобного программирования и характера взаимодействия специфических и неспецифических процессов, определяющих проявление повреждений и нарушений функций головного мозга при действии различных неблагоприятных факторов в критические периоды эмбриогенеза, является одной из актуальных задач современной биологии развития. Однако, механизмы пролонгированного действия неблагоприятных факторов в пренатальном периоде на адаптивные реакции и поведение пока далеки от их понимания. С учетом сказанного, актуальность темы диссертационной работы Е.И. Тюльковой не вызывает сомнений.

Целью рецензируемой диссертационной работы явилось изучение комплекса физиологических реакций и молекулярных механизмов, индуцируемых пренатальным воздействием тяжелой гипобарической гипоксии. Следует отметить, что поставленные задачи работы соответствуют цели исследования, а полученные данные отличаются научной новизной.

Рукопись диссертационной работы Е.И. Тюльковой построена по традиционному плану. Диссертация изложена на 283 страницах печатного текста, иллюстрирована 65 рисунками и 11 таблицами. Список литературы включает 101 русских и 577 иностранных источников.

Во введении обосновывается актуальность выбранного направления исследования, формулируются цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, новизна полученных экспериментальных данных, их теоретическое и практическое значение. Этот раздел читается легко, выглядит компактным и информативным, соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к оформлению диссертаций.

Далее следуют главы, содержащие литературный обзор, описание материалов и методов исследования, полученных результатов, обсуждение результатов, заключение, выводы и цитируемая литература. Написана диссертация хорошим научным языком, однако некоторых стилистических погрешностей и опечаток избежать не удалось (стр. 2, 10, 46, 52, 200, 220).

Глава 1 (обзор литературы) диссертации Е.И. Тюльковой посвящена описанию современных представлений о базисных молекулярно-клеточных механизмах, вовлекающихся в адаптивные и патологические реакции мозга, представлениям о действии повреждающих факторов в раннем онтогенезе на развивающийся мозг. Все разделы обзора и цитированная литература имеет прямое отношение к теме и задачам диссертационной работы. Глава содержит 68 страниц текста 11 рисунков и 2 таблицы. К сожалению, в списке цитированной литературы имеются повторы (номера: 474 и 475).

Глава 2, изложенная на 25 страницах, с 3-мя рисунками и таблицами содержит описание методов и материалов, использованных для решения поставленных задач, организации и условий проведения экспериментов, использованное оборудование и статистические подходы для обработки экспериментального материала. Следует отметить, что методические приемы, использованные в работе, современны и адекватны поставленным задачам. Богатый арсенал методов, которыми владеет автор, производит большое впечатление. Применение молекулярно-биологических, морфологических, поведенческих методик в одном исследовании позволило автору провести всестороннее комплексное исследование.

Следующая глава диссертации посвящена описанию результатов собственных исследований, разделенных на несколько больших смысловых разделов. Каждый из этих разделов предваряется кратким введением, характеризующим стоящие в этом разделе работы задачи и их обоснованность, затем содержит подробное описание экспериментальных результатов и завершается заключением, позволяющим логично перейти к следующему разделу.

Результаты исследований подробно описаны на 70 страницах и иллюстрированы рисунками (16-64) и таблицами (6-7). Работа выполнена на большом экспериментальном материале, полученные данные обработаны с применением адекватных методов количественного и статистического анализа, что делает их вполне достоверными. Хотя методы анализа описаны в ряде случаев очень лаконично.

В работе получены новые, имеющие теоретическое и практическое значение данные. Убедительно показано, что тяжелая гипобарическая гипоксия или введение искусственного глюкокортикоидного гормона дексаметазона в пренатальном периоде развития приводят к устойчивым нарушениям двигательного, эмоционального, исследовательского поведения и способности к обучению у крыс, в основе которых лежат структурно-функциональные нарушения в ЦНС, проявляющиеся на молекулярно-

клеточном уровне. Обнаружены сходства и различия в эффектах действия тяжелой гипобарической гипоксии и дексаметазона в различные сроки пренатального онтогенеза крыс.

Выяснена роль гормональных и внутриклеточных процессов в формировании реакций мозга при воздействии гипоксии или дексаметазона на различных этапах пренатального онтогенеза крысы. Предъявляемая в период пренатального онтогенеза тяжелая гипобарическая гипоксия приводит к изменениям в регуляции ГГАС по принципу отрицательной обратной связи у самок (но не у самцов) крыс. Гипоксия и введение дексаметазона в течение третьей недели пренатального онтогенеза вызывают модификации экспрессии глюко- и минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе взрослых крыс, что отражается на поведении животных.

Последствия пренатальной гипоксии, проявляющиеся в изменениях функциональной активности кальциевой и фосфоинозитидной регуляторных систем, обнаруживаются уже на самых ранних стадиях постнатального развития и сохраняются во взрослом состоянии. Гипоксия в пренатальном периоде приводит к длительной активации фосфоинозитидной внутриклеточной регуляторной системы мозга крыс, что проявляется в повышении уровня содержания ключевого компонента фосфоинозитидной системы – фосфатидилинозитола-4,5-дифосфатов в гиппокампе и новой коре мозга; модификации фосфоинозитидного ответа на действие глутамата в срезах мозга не только у 14-суточных крыс, но и у взрослых животных (при этом фосфоинозитидный ответ на действие глутамата наблюдался и у взрослых животных, перенесших тяжелую гипоксию на 14-16-е сутки (но не на 17-19-е); длительной активации экспрессии IP3R-1 в области CA1 гиппокампа крыс. Введение дексаметазона на 14-16-е и 17-19-е сутки пренатального онтогенеза значительно повышает уровень содержания полифосфоинозитидов в гиппокампе и неокортексе взрослых крыс (причем это повышение превосходит изменения содержания ТФИ после пренатальной гипоксии) и приводит к длительной активации экспрессии IP3R-1 в области CA1 гиппокампа.

Показано, что гипоксия на 14-16-е сутки пренатального онтогенеза крыс, наряду с активацией фосфоинозитидной системы вызывает отсроченные изменения состояния глутаматергической системы трансдукции, а также приводит к изменению соотношения про- и антиоксидантных систем мозга взрослых крыс: индуцирует выраженную длительную активацию процессов перекисного окисления липидов в гиппокампе и неокортексе крыс и модифицирует уровень экспрессии пептидных антиоксидантов в различных отделах гиппокампа.

Полученные приоритетные данные вносят существенный вклад в понимание механизмов нарушения функций мозга, вызываемых тяжелой гипоксией в пренатальном периоде, и могут быть использованы при создании нового поколения эффективных фармакологических препаратов, оказывающих направленное действие на ключевые звенья повреждающих механизмов, связанных с гиперактивацией глутаматергической сигнальной трансдукции, опосредуемой кальциевой и фосфоинозитидной системами мозга, а также с нарушениями нейроэндокринной регуляции.

В заключительной главе диссертации обсуждаются все полученные данные, приводится их анализ, и этот раздел диссертации очень логично подводит к выводам, которые соответствуют цели и задачам исследования.

Выводы соответствуют полученным результатам, хорошо обоснованы и отражают суть положений, выносимых на защиту. Материалы, полученные в диссертационной работе, могут быть использованы в научно-исследовательской работе научных учреждений и в курсах лекций, читаемых в ВУЗах медицинского и биологического профиля.

Основные результаты диссертационного исследования Тюльковой Е.И. обсуждались на конференциях и симпозиумах Международного и Российского уровня. По материалам диссертации опубликовано 106 научных работ, включая 33 статьи в рецензируемых журналах. Автореферат отражает основные положения и содержание диссертации.

Хотелось также обсудить, в качестве дискуссии, почему практически вся работа выполнена на самцах крыс, и только некоторые показатели на самках (в том числе ГТАС, УРПИ).

Заключение. Диссертация Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе» представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение, имеющее важное значение для нейрофизиологии. Полученные результаты достоверны, выводы обоснованы. Автореферат верно отражает содержание диссертации. Принимая во внимание актуальность

выполненной работы, обоснованность и научную новизну сделанных обобщений и выводов, а также их существенную теоретическую и практическую значимость для современной науки, можно заключить, что диссертация Тюльковой Екатерины Иосифовны «Механизмы формирования патологических состояний мозга в ответ на воздействие гипоксии в пренатальном онтогенезе» соответствует предъявляемым к докторским диссертациям требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, 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.

Зав. лабораторией сравнительной физиологии
и патологии центральной нервной системы
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук,
доктор биологических наук,
специальность 03.03.01 - физиология



И.А. Журавин

адрес: ИЭФБ РАН, пр. Тореза, 44,
Санкт-Петербург, РФ,
Раб. Тел. +7812 5523166,
E-mail: zhuravin@iephb.ru



Подпись руки
подтверяю
в.канцелярией
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

Журавина И.А.
РБС 05.10.2015