

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертации Калининой Дарьи Сергеевны «ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРЫ МОЗГА В ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность. Пренатальная гипоксия является одной из наиболее распространенных патологий внутриутробного развития, приводящей к долгосрочным дисфункциям систем организма и возникновению различных заболеваний, прежде всего энцефалопатий. Показано, что пренатальная гипоксия значительно повышает предрасположенность к раку, диабету, аллергиям, а также целому ряду нервно-психических болезней – депрессии, шизофрении и др. Согласно статистическим данным, пренатальные гипоксические повреждения мозга лежат в основе формирования более 60% патологий нервной системы. Однако до настоящего времени отсутствуют сведения, позволяющие проследить каузальную связь между гипоксией плода во время беременности и формированием эпилепсии в течение последующей жизни. Диссертационное исследование Калининой Д.С., раскрывающее патогенетическую роль пренатальной гипоксии в изменении возбудимости нервной ткани в онтогенезе млекопитающих и при моделировании экспериментальной эпилепсии, восполняет этот пробел.

Научная новизна исследования Д.С. Калининой связана прежде всего с тем, что такой аспект пренатальной гипоксии как ее влияние на онтогенетическую динамику электрофизиологических процессов в коре головного мозга до сих пор практически не исследован. Соответственно, все сведения, полученные Д.С. Калининой, являются новыми. Ею впервые показано, что гипоксия (7% кислорода, 3 ч) на 14 день эмбрионального развития крыс нарушает возрастную динамику ритмов электрокортикограммы, причем этот эффект коррелирует с отклонениями в экспрессии белковых переносчиков возбуждающих и тормозных аминокислот в гиппокампе и неокортексе. Кроме того, установлено, что пренатальная гипоксия потенцирует судороги, индуцируемые электрошоком или микроинъекцией токсина у ювенильных и взрослых животных. Полученные факты впервые раскрывают роль пренатального гипоксического фактора в развитии нарушений возрастной

электроволновой динамики мозга и формировании предрасположенности к судорогам.

Теоретическое значение работы определяется полученными фундаментальными сведениями о нормальном паттерне созревания ритмов электрической активности мозга и о его нарушениях при действии пренатальной гипоксии. Кроме того, в работе выявлены вероятные молекулярные механизмы этих нарушений, в частности, модификации функций медиаторных систем мозга. Эти новые сведения в значительной степени расширяют современные представления о патологических последствиях внутриутробной гипоксии.

Практическое значение. Гипоксия представляет собой один из наиболее распространенных повреждающих факторов, действующих на развивающийся мозг в период внутриутробного онтогенеза. Исследование ее патологических последствий и лежащих в их основе механизмов необходимо для поиска эффективных путей коррекции и компенсации этих нарушений. Полученные в работе Д.С. Калининой факты указывают на новые терапевтические мишени, воздействие на которые, возможно, позволит скорректировать индуцированные пренатальной гипоксией отклонения в созревании электрических процессов мозга, что в свою очередь снизит риски возникновения эпилептических очагов у людей, перенесших внутриутробную гипоксию.

Материал диссертации изложен ясно, диссертация хорошо структурирована и оформлена. Работа изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, изложения материалов и методов исследования, собственных результатов, их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 35 рисунками и 6 таблицами. По объему соотношение разделов в диссертации сбалансировано.

Во Введении, основываясь на современном уровне знаний, убедительно обосновывается актуальность выбранного направления диссертационного исследования, четко и лаконично формулируется цель и задачи. Цель работы состояла в изучении динамики созревания электрической активности и возбудимости мозга в норме и после перенесенной пренатальной гипоксии в экспериментальных моделях на крысах. Для достижения цели поставлено 6 конкретных задач исследования, соответствующих цели.

В Обзоре литературы приводятся сведения о морфологических и молекулярных основах созревания высших отделов головного мозга, возрастной динамике процессов возбуждения и торможения, деструктивном влиянии повреждающих факторов при их действии в критические периоды эмбрионального развития. Значительная часть Обзора посвящена проблеме эпилептогенеза, в частности электрофизиологическим и молекулярным механизмам формирования эпилептиформной активности мозга, а также рассмотрению существующих экспериментальных моделей эпилепсии. Обзор литературы в целом производит хорошее впечатление, однако нельзя не отметить ряд недостатков. Первый - на наш взгляд в Обзоре приводится недостаточно информации по проблеме гипоксии, в частности нет ввода понятия о гипоксии, ее видах и особенностях, а также базисных механизмах повреждающего действия гипоксического фактора и его компенсации. С первым недостатком во многом связано и второе замечание, которое касается главы 1.2. При прочтении этой главы возникает ощущение, что автор смешивает такие понятия как «гипоксия», «стресс», «патологические факторы», причем понятия «пренатальная гипоксия» и «пренатальный стресс» используются автором как синонимы. В связи с этим хотелось бы задать диссертанту вопрос – как автор понимает отличия «пренатальной гипоксии» от «пренатального стресса», общности и специфики их механизмов и эффектов? Учитывая тот факт, что предмет данной работы не связан с проблематикой стресса, в том числе и пренатального, отрывочное цитирование данных, полученных в моделях пренатального стресса, попеременно с моделями пренатальной гипоксии, вносит некую путаницу. По нашему мнению, было бы целесообразно в главе 1.2. сконцентрироваться только на сведениях по пренатальной гипоксии и назвать ее соответствующим образом: «Влияние пренатальной гипоксии на развитие мозга и поведения».

Вторая глава - «Материалы и методы», довольно значительная по объему, содержит описание экспериментального материала и богатого, разнопланового арсенала методов и подходов, использованных в работе. Методическая основа исследования Д.С. Калининой представлена комплексом современных электрофизиологических, биохимических и поведенческих методов, онтогенетического подхода, а также инъекционных и хирургических техник. Последнее хочется отметить особо, поскольку очевидно, что проведение операций по вживлению электродов в неокортекс маленьких крысят представляет собой технически непростую задачу, с которой диссертант успешно справился.

Методический раздел диссертации прекрасно иллюстрирован схемами и цветными фотографиями разных экспериментальных ситуаций, в том числе и в поведенческих тестах. По поводу исследования поведения возник вопрос – почему для тестирования избрана вторая половина дня (13 -17 часов)? Обычно поведенческие тесты проводят в первой половине дня, учитывая суточную динамику кортикостерона (стабильный базальный уровень), но не к вечеру (17-00), когда происходит градуальное снижение уровня кортикостерона. В связи с этим базальный уровень глюкокортикоидов у экспериментальных групп в 13-14 часов и 16-17 часов будет различным, что может вносить вклад в показатели тревожности. Вторым вопросом по методической части – в какой последовательности и в какие дни проводились поведенческие тесты? Как это соотносилось с другими процедурами и общей схемой эксперимента? На рисунке 2 («Схема проведения эксперимента») с временной шкалой соотнесены только эксперименты по регистрации ЭКоГ.

В следующем разделе работы приводится описание новых фактов, установленных в результате проведенных собственных исследований. В частности, выполнен детальный анализ характеристик ЭКоГ у крыс трех возрастных периодов в норме и после воздействия пренатальной гипоксии. Установлено, что гипоксия на E14 нарушает динамику спектральных характеристик ЭКоГ, что коррелирует с модификациями экспрессии ряда транспортеров, регулирующих активности возбуждающей (глутаматергическая, холинергическая) и тормозной (ГАМК) медиаторных систем. Наряду с этим проявлялся выраженный анксиогенный эффект пренатальной гипоксии на поведение, что хорошо согласуется с литературными сведениями. Помимо этого выявлялась гиперактивность и нарушения когнитивных процессов, а также сенсibilизация к эпилептогенным воздействиям электрической или химической природы у животных, перенесших гипоксию на 14-й эмбриональный день. Полученные в диссертационном исследовании Д.С. Калининой факты раскрывают вероятную патогенетическую роль пренатальной гипоксии в генезе спорадических форм эпилепсии и впервые проясняют лежащие в основе конкретные механизмы, в частности связанные с модификациями экспрессии транспортеров глутамата, ацетилхолина и ГАМК.

В целом экспериментальные результаты представлены корректно и убедительно, хорошо проиллюстрированы, однако следует отметить недостаточно информативные подписи к ряду рисунков, затрудняющие восприятие данных. Например, на рисунке 21 не ясно что обозначено цветом на гистограммах, какие

столбики соответствуют контролю, какие – гипоксии. Можно предположить, что гистограммы иллюстрируют отклонения показателей от 100%, соответствующих контрольным значениям, что безусловно наглядно. Однако, это необходимо было отразить в подписи.

В разделе Обсуждение в лаконичной форме и в виде сводной таблицы суммируются полученные в работе сведения, проводится их анализ и осмысление в свете современной теории. Местами в Обсуждении повторяются фразы и сведения из предыдущих глав, а также ссылки на исходные рисунки с данными, что на наш взгляд излишне, однако это не снижает общего хорошего впечатления. Завершается диссертационная работа Заключением, в котором помимо резюмирования результатов также содержатся элементы обсуждения. Выводы корректно сформулированы, полностью отражают результаты работы и соответствуют задачам.

Основные результаты диссертационного исследования Д.С. Калининой изложены в 20 печатных работах, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ, и широко обсуждались на конференциях и симпозиумах. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации.

В заключении стоит подчеркнуть, что сделанные в отзыве незначительные замечания относятся к вопросам оформления диссертации, а не ее сути и не влияют на значимость работы. Учитывая совокупность представленных в работе материалов, очевидно, что диссертационная работа Д.С. Калининой представляет собой фундаментальное исследование патогенетической роли пренатальной гипоксии при эпилепсии, а полученные ею результаты вносят значительный вклад в понимание патогенеза эпилепсии, открывая новые возможности для ее лечения.

Заключение. Таким образом, диссертацию Калининой Дарьи Сергеевны «ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРЫ МОЗГА В ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ», следует признать актуальной, характеризующейся высокой степенью новизны полученных сведений, а также значимостью сделанных выводов. Работа отвечает современным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением № 842 Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., а

Калинина Дарья Сергеевна заслуживает присвоения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Заместитель директора по научной работе,
главный научный сотрудник
лаборатории нейроэндокринологии

ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН,

доктор биологических наук

специальность 03.03.01 – физиология



Е.А. Рыбникова

6 июня 2017 г.

Федеральное государственное
бюджетное учреждение Институт физиологии

им. И.П. Павлова

Российской академии наук

Адрес: наб. Макарова, д. 6

199034 Санкт-Петербург

Тел. (813) 707-28-50

Факс (812) 328-05-01