

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Дарьи Сергеевны Калининой «Особенности формирования электрической активности коры мозга в онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 «Физиология».

Актуальность избранной темы.

В целом задачи исследования, предложенные соискателем, являются весьма актуальными, как с точки зрения фундаментальной науки, так и для дальнейшей разработки методов диагностики и лечения патологии развития.

В частности. Пренатальный стресс, в том числе и гипоксия, является широко распространенной патологией и может приводить к значительному отставанию в созревании структур и функций головного мозга в последующем онтогенезе. Нарушения в развитии мозга в свою очередь могут являться причиной нервно-психических заболеваний, в том числе, синдрома нарушения внимания с гиперактивностью, шизофрении, трудностям в обучении. В 21 веке понимание механизмов развития систем мозга, участвующих в патогенезе психических заболеваний, является актуальной медико-социальной проблемой.

Исследование особенностей созревания мозга с нормальным и нарушенным эмбриогенезом может также позволить прояснить механизмы адаптивных перестроек, происходящих в результате патологического эмбриогенеза млекопитающих, что все чаще встречается в клинической практике, в том числе при выхаживании детей, рожденных с экстремально малым весом.

Содержание диссертации.

Диссертационная работа посвящена проблемам формирования нейрональной активности неокортекса и изменений уровня возбудимости мозга в постнатальном онтогенезе, в том числе при моделировании эпилепсии у крыс

с нормальным эмбриональным развитием и у перенесших пренатальную гипоксию.

Диссертационная работа Д.С. Калининой построена по традиционной схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, используемых в работе, изложения результатов, их обсуждения, выводов и списка использованных литературных источников. Работа изложена на 139 страницах, содержит 6 таблиц и 35 рисунков. Список литературы включает 234 источника.

В вводной части (Введение) автор обосновывает актуальность направления исследований, формулирует цели, задачи и положения, выносимые на защиту, описывает новизну и апробацию полученных данных.

В главе, посвященной литературному обзору, автор последовательно описывает формирование коры головного мозга крыс, механизмы гиперсинхронизации электрической активности и эпилептогенеза, а также подробно останавливается на проблеме влияния пренатальной гипоксии на развитие мозга. Детально рассмотрены существующие методические подходы в исследовании нейроонтогенеза на животных моделях и анализирует их преимущества и недостатки. Также формулируются основные требования к методикам, примененным в ходе экспериментального исследования для решения конкретных задач. Обзор литературы логично приводит к формулировке цели исследования.

Раздел, описывающий методику исследования и использованные материалы, весьма подробен и богато проиллюстрирован. Для исследования были использованы крысы Wistar, в диссертации описаны методы моделирования пренатальной гипоксии, регистрации электрокортикограммы (ЭКoГ), анализ содержания транспортеров медиаторов, поведенческие тесты, электрофизиологические и химические методы моделирования эпилепсии. Подробно описаны, адекватно используемые в работе, статистические методы анализа. Количество использованных методов говорит о хорошей подготовке диссертанта и попытке провести разностороннее исследование.

Можно было бы не так подробно проводить поведенческую часть работы, поскольку часть тестов дублируют в какой-то мере друг друга. Хотя не очевидно, является ли это недостатком или достоинством работы.

В главе «Результаты» диссертации соискатель описывает полученные данные, не вызывающие сомнений по своей достоверности. Подробно проанализированы полученные данные по изменению спектральной плотности мощности ЭКоГ при бодрствовании и медленноволновом сне у крыс с нормальным эмбриональным развитием и перенесших пренатальную гипоксию. Выяснено, что у крыс с нормальным эмбриогенезом в процессе постнатального развития происходит смещение пика спектральной плотности мощности ЭКоГ тета-ритма бодрствования с низкочастотной к более высокочастотной области, в то время как у животных с пренатальной патологией наблюдается обратная тенденция. Также показано, что в процессе постнатального онтогенеза у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, происходит выраженное снижение суммарной спектральной плотности мощности ЭКоГ медленноволнового сна в диапазоне 1-5 Гц. Автор отмечает наличие нарушений когнитивных функций и поведения, таких как нарушение формирования пространственной карты при локализации объектов, а также гиперактивность и повышенный уровень тревожности у крыс, перенесших пренатальную гипоксию. Было обнаружено изменение содержания белков-переносчиков глутамата и аспартата (EAAT1), ГАМК (GAT1) и ацетилхолина (VACHT) в неокортексе и гиппокампе у животных, перенесших пренатальную гипоксию. Причем эти изменения носили различный характер в зависимости от возраста животного. Также возрастная динамика прослеживается и при моделировании эпилепсии. При формировании локального очага эпилепсии путем внутрикорткального введения 4-аминопиридина впервые было показано, что животные младших возрастных групп, перенесшие пренатальную гипоксию, имеют более длительные эпизоды эпилептиформной активности по сравнению с контрольной группой. Также автором была показана большая тяжесть и

длительность судорог у крыс младшей возрастной группы при нефармакологическом моделировании эпилепсии методом дозированного электрошокового воздействия. В то же время предполагается, что участие ГАМКа-ергической системы в созревании баланса торможения и возбуждения у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, менее значимо, поскольку животные в возрасте P20-26 и P30-45 более устойчивы к воздействию антагониста ГАМКа-рецепторов пентилентетразола.

Научная новизна исследования.

Научная новизна исследования не вызывает сомнения:

Впервые показано, что в процессе онтогенеза у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, происходит нарушение в формировании тета-ритма ЭКоГ во время бодрствования, а также дельта-ритма ЭКоГ во время медленноволнового сна. Автором показано, что пренатальная гипоксия приводит к смещению баланса в медиаторных системах мозга в сторону возбуждения в возрасте P20-26 и P30-45 и торможения в возрасте P90-120, о чем свидетельствуют изменения содержания переносчиков возбуждающих (глутамата - EAAT1, ацетилхолина - VAChT) и тормозных (ГАМК - GAT1) аминокислот.

Впервые исследованы изменения возбудимости мозга крыс разного возраста, перенесших пренатальную гипоксию на E14, методами моделирования эпилептических состояний. В возрасте P20-26 и P30-45 у крыс с пренатальной гипоксией облегчена генерация гиперсинхронизации электрической активности по сравнению с контролем в электрошоковой и 4-аминопиридиновой моделях эпилепсии. У крыс, перенесших пренатальную гипоксию, в возрасте P20-26 и P30-45 в генерации гиперсинхронизации электрической активности заметно меньшую роль играет торможение, обусловленное ГАМКа-рецепторами, тогда как в P90-120 показана большая их вовлеченность при моделировании эпилепсии пентилентетразолом.

Изложение материала завершается Заключением и Выводами, которые полностью отражают полученные результаты.

Теоретическая значимость.

Теоретическая значимость данной работы заключается в раскрытии возможных механизмов формирования повышенной возбудимости, вызванной пренатальным стрессом. Продемонстрировано, что пренатальная гипоксия приводит к изменению баланса возбуждающих и тормозных медиаторов в коре мозга и гиппокампе крыс на разных сроках постнатального онтогенеза.

Практическая значимость.

Не вызывает сомнения практическая значимость - полученные данные могут быть использованы в анализе ЭЭГ человека и разработке диагностических критериев при различных патологиях развития. Выявленные аномалии ГАМК-ергической системы мозга крыс, перенесших пренатальную гипоксию могут стать основой разработки новых антиэпилептических препаратов.

При обсуждении полученных результатов (глава «Обсуждение») автор связывает экспериментальные данные и аргументирует изменения электрической активности и тяжести ее гиперсинхронизации, а также нарушение поведения у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, основываясь на изменении баланса в возбуждении и торможении мозга вследствие нарушений, произошедших в пренатальный период.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В основу проведенного исследования положен тщательный анализ литературы. Логика построения исследования и методология корректны и не вызывают замечаний. Экспериментальные процедуры выполнены с использованием комплексных методов, позволяющих адекватно ответить на поставленные задачи исследования. Анализ данных проведен с использованием адекватной статистической обработки. Выводы и положения диссертации хорошо обоснованы статистически достоверными результатами.

Данные исследования Д.С. Калининой были представлены в виде устных и стендовых докладов на многих Всероссийских и международных

конференциях. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней.

В целом, работа производит благоприятное впечатление: 1) автором проведено серьезное исследование проблемы, 2) рассмотрен широкий спектр методических подходов с анализом их возможностей и недостатков. 3) результаты работы могут быть использованы для курсов лекций в университетах биологического и медицинского профиля.

Вопросы для дискуссии и замечания.

Как таковых замечаний к диссертационной работе у меня не имеется.

На дискуссию я хотел бы вынести следующий вопрос, который связан с распространением результатов, полученных автором в эксперименте с крысами, на теоретические и практические аспекты здорового и больного мозга человека:

Как известно из работ на человеке, сенсо-моторная кора головного мозга человека, генерирует так называемый мю-ритм в диапазоне 9-13 Гц. Этот ритм генерируется таламо-кортикальной системой, связывающей заднее-вентральное ядро таламуса с сенсо-моторной корой и модулирующей таламо-кортикальный поток информации тормозными влияниями соответствующего ретикулярного ядра таламуса. У крыс в сенсо-моторной коре автор, как и многие другие исследователи (Vertes and Kocsis, 1997; Buzsáki and Draguhn, 2004), наблюдала тета-ритм, который, как утверждает автор в обсуждении результатов регистрации электрокортикограммы (ЭКоГ), связан с гиппокампальным тета ритмом, имеющим в свою очередь другой механизм и другое функциональное значение в отличие от сенсо-моторного ритма. Хотелось бы услышать мнение автора по поводу этого очевидного разногласия между данными на крысах и на человеке. Это важно также и в связи с практическим применением биологической обратной связи по сенсо-

моторному ритму для купирования симптомов эпилепсии у человека в клинической практике (Sterman, 1969, 1989; Lubar et al., 2004).

Заключение

Диссертационная работа Дарьи Сергеевны Калининой «Особенности формирования электрической активности коры мозга в онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию» выполнена на высоком научном уровне и является законченным научным исследованием. Результатом работы является решение важной задачи актуального направления в физиологии и биомедицине. Приведенные результаты можно классифицировать как новые, обоснованные и имеющие большое практическое и научное значение.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Калинина Дарья Сергеевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01. – «Физиология».

Официальный оппонент
Заведующий лабораторией
нейробиологии программирования действий
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт мозга человека
им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук
Лауреат Государственной Премии СССР,
Почетный профессор Гданьской Академии Спорта
доктор биологических наук, профессор

Адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 9, тел. (812) 670-99-89
E-mail: info@ihb.spb.ru



Подпись Ю.Д. Кропотов удостоверяю

Зав. отделом кадров ИМЧ РАН И.А. Чернышев