

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.127.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
ИНСТИТУТА ЭВОЛЮЦИОННОЙ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ им. И.М. СЕЧЕНОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело №\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 20 июня 2017 года № 73

О присуждении Калининой Дарье Сергеевне, гражданство РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРЫ МОЗГА В ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ»** по специальности 03.03.01 «Физиология» принята к защите 18 апреля 2017 года, протокол № 71, диссертационным советом Д002.127.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, 194223, Санкт-Петербург, проспект Гореза, дом 44. Диссертационный совет утвержден приказом Министерства образования и науки РФ от 11.04.2012 №105/нк.

Соискатель, Калинина Дарья Сергеевна, 1990 года рождения, в 2013 году окончила Санкт-Петербургский Государственный университет и получила степень магистра биологии. С 2013 по 2016 гг. обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук. В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории сравнительной физиологии и патологии центральной нервной системы этого же Института. Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2017 году в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук в лаборатории сравнительной физиологии и патологии ЦНС.

Научные руководитель: доктор биологических наук Журавин Игорь Александрович, заведующий лабораторией сравнительной физиологии и патологии ЦНС в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1) Кропотов Юрий Дмитриевич, доктор биологических наук (03.03.01 - Физиология), профессор, заведующий лабораторией нейробиологии программирования действий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института мозга человека им. Н.П.Бехтеревой РАН.

2) Рыбникова Елена Александровна, доктор биологических наук (03.03.01 - Физиология), заместитель директора по науке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук в своем положительном отзыве, подписанном заведующим лабораторией нейроонтогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, доктором биологических наук, профессором Раевским Владимиром Вячеславовичем и утвержденным заместителем директора по научной работе Федерального государственного

бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН доктором биологических наук, профессором Н.В. Гуляевой, указал, что диссертация Калининой Дарьи Сергеевны является законченной научной квалификационной работой и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Полученные Калининой Д.С. экспериментальные данные имеют большое теоретическое значение и практическую ценность. Они расширяют знания об особенностях формирования электрической активности коры мозга в онтогенезе в норме и при патологических условиях (гипоксия), ее роли в изменении чувствительности к эпилепсии, а также дают в будущем возможность использования показателя изменения в ЭКоГ или ЭЭГ в клинике в качестве диагностического критерия для оценки изменения уровня возбудимости нервной системы у пациентов, перенесших пренатальный стресс. Было отмечено, что результаты диссертационной работы могут быть использованы в научно-исследовательской работе ряда учреждений, в частности: Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Института мозга человека РАН, Института цитологии РАН, Санкт-Петербургского научно-исследовательского психоневрологического Института им. В.М. Бехтерева и др., а также они могут быть использованы в лекционных курсах, читаемых в ВУЗах.

Ведущее учреждение заключило, что диссертационная работа Калининой Дарьи Сергеевны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - Физиология, является законченной научной квалификационной работой и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в «Положении о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (пункт 9-14), а Калинина Дарья Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - Физиология.

Соискателем опубликовано 23 печатные работы по теме диссертации: 3 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для размещения материалов кандидатских диссертаций, 3 – главы двух коллективных монографий и 17 тезисов докладов в материалах всероссийских и международных конференций.

Статьи по теме диссертации:

1. Калинина Д.С., Фролова Е.В., Лаврентьева В.В., Дубровская Н.М., Лукомская Н.Я., Ким К.Х., Зайцев А.В., Журавин И.А., Магазаник Л.Г. Отдаленное влияние пренатальной гипоксии на подверженность крыс электросудорогам // Доклады Академии наук. -2015. – Т.465. -№5. –С.631-633.

2. Калинина Д.С., Вольнова А.Б., Алексеева О.С., Журавин И.А. Электрическая активность неокортекса у взрослых крыс после пренатальной гипоксии и при моделировании эпилепсии // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. -2016. –Т.52. -№5. –С.321-327.

3. Калинина Д.С., Ленков Д.Н., Журавин И.А., Вольнова А.Б. Возрастная динамика ЭЖоГ и судорожной активности крыс линии Wistar в корковой модели фокальной эпилепсии // Журнал высшей нервной деятельности. - 2017. - Т.67. -№3. -С.270-282.

На автореферат диссертации поступили отзывы:

1) от Сапроновой А.Я., канд. биол. наук, ведущего научного сотрудника лаборатории нервных и нейроэндокринных регуляций Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН;

2) от Цыцарева В.Ю., канд. биол. наук, научного сотрудника Института трансляционной биомедицины СПбГУ;

3) от Белова Д.Р., доктора биол. наук, доцента кафедры Физиологии ВНД и психофизиологии Санкт-Петербургского государственного университета;

4) от Клименко В.М., профессора, доктора мед. наук, заведующего физиологическим отделом им. И.П. Павлова и Лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга Института экспериментальной медицины;

5) от Суворова Н.Б., профессора, доктора биол. наук, заведующего отделом нейроэкологии Института экспериментальной медицины;

6) от Мусиенко П.Е., доктора мед. наук, ведущего научного сотрудника лаборатории физиологии движений Института физиологии им. И.П. Павлова.

Все отзывы на автореферат диссертации положительны, в них сделано заключение о том, что диссертационная работа Калининой Д.С. отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что назначенные оппоненты являются компетентными учеными в области физиологии ЦНС и имеют многочисленные публикации в ведущих российских и зарубежных изданиях.

Ведущее учреждение – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН широко известно своими достижениями в области физиологии ВНД, нейрохимии и молекулярной биологии и способно компетентно определить научную и практическую ценность диссертации Д.С. Калининой.

**Диссертационный совет отмечает, что в результате исследований, выполненных соискателем Д.С. Калининой, впервые выявлено, что в ходе постнатального онтогенеза у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, не происходит увеличение спектральной плотности мощности ЭКоГ тета-ритма во время бодрствования и наблюдается обратная тенденция в смещении ее пика по сравнению с контрольными животными. Также автором показано, что в процессе постнатального онтогенеза у крыс, перенесших пренатальную**

гипоксию, происходит выраженное снижение суммарной спектральной плотности мощности ЭКГ медленноволнового сна в диапазоне 1-5 Гц.

Автором впервые показано изменение в балансе возбуждающих и тормозных медиаторов (по содержанию белков-переносчиков глутамата и аспартата (EAAT1), ГАМК (GAT1) и ацетилхолина (VAChT)) в коре и гиппокампе мозга крыс в возрасте P20, P35 и P90, перенесших пренатальную гипоксию. Продемонстрировано увеличение содержания транспортера глутамата EAAT1 в коре мозга во всех исследованных возрастных группах по сравнению с контролем, в то время как в гиппокампе отмечено его снижение наряду с увеличением транспортера ГАМК GAT1 у взрослых крыс. Также впервые показано снижение содержания переносчика ацетилхолина VAChT в процессе постнатального онтогенеза у крыс, перенесших пренатальную гипоксию.

Впервые исследованы изменения возбудимости мозга крыс разного возраста, перенесших пренатальную гипоксию на E14, методами моделирования эпилептических состояний. Показано, что при использовании электрошока более тяжелые и длительные судороги наблюдаются у крыс в возрасте P20-26 и P30-45 после пренатальной патологии. При формировании локального очага эпилепсии микроинъекцией 4-аминопиридина впервые было показано, что крысы, перенесшие пренатальную гипоксию, имеют более длительные эпизоды эпилептиформной активности по сравнению с контрольными животными. При системном введении антагониста ГАМК-рецепторов пентилентетразола крысы с пренатальной патологией в возрасте P20-26 и P30-45 продемонстрировали большую, а в P90-120 – меньшую устойчивость к данному эпилептогену по сравнению с контрольными животными соответствующих возрастных групп.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что результаты работы позволили раскрыть один из возможных механизмов формирования повышенной возбудимости, вызванной пренатальной гипоксией. Показано, что пренатальная гипоксия приводит к изменению**

баланса возбуждающих и тормозных медиаторов в коре мозга и гиппокампе крыс на разных сроках постнатального онтогенеза. Показано, что в возрасте P20-26, по-видимому, происходит увеличение возбуждения в коре, в то время как у взрослых крыс (P90-120) наблюдается компенсаторное торможение со стороны гиппокампа, о чем свидетельствуют изменения содержания транспортеров возбуждающих и тормозных аминокислот, которые могут являться маркерами содержания глутамата и увеличения ГАМК. Также показано, что у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, в возрасте P20-26 и P30-45 в генерации гиперсинхронизации электрической активности заметно меньшую роль играет торможение, обусловленное ГАМК-рецепторами, тогда как в P90-120 отмечена большая их вовлеченность при моделировании эпилепсии.

**Практическая значимость проведенной работы состоит в том,** что полученные данные о формировании электрической активности коры мозга в постнатальном онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию, могут быть использованы в анализе спектральной плотности мощности ЭЭГ человека и разработке диагностических критериев при различных патологиях развития. Выявленные аномалии ГАМК-ергической системы мозга крыс, перенесших пренатальную гипоксию, могут быть полезны при разработке новых фармакологических препаратов для лечения эпилепсии у людей с патологией эмбрионального развития.

Результаты диссертационной работы могут быть использованы в научно-исследовательской работе ряда медицинских и научных учреждений, а также в лекционных курсах, читаемых в ВУЗах.

В ходе экспериментальной работы автором использован широкий спектр современных физиологических и биохимических методов. Для определения изменений в формировании электрической активности был использован метод регистрации ЭКоГ с последующим анализом спектральной плотности мощности. Автор использовал различные модели эпилепсии, позволяющие оценить вовлеченность различных структур мозга в эпилептиформную

активность, а также широкий спектр поведенческих тестов и анализа когнитивных функций крыс.

Статистический анализ данных проводился с использованием программы GraphPad Prizm 7.0. Достоверность отличий оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента и различия считались значимыми при  $p < 0.05$ . Анализ результатов иммуноблоттинга проводился с использованием параметрического критерия однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Достоверность отличий спектральной мощности ЭЖОГ как в группах разного возраста, так и в группах контроля и с пренатальной гипоксией оценивалась с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA. Сравнение средних значений в экспериментах по оценке гиперактивности и уровня тревожности осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок, либо с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, при этом значимыми считались различия при  $p \leq 0.05$ . Оценка достоверности результатов исследования показала, что данные, представленные в диссертации, получены с участием достаточного количества экспериментального материала.

Личный вклад Д.С. Калининой в выполнение данного диссертационного исследования состоит в планировании, подготовке и проведении всех экспериментов, сборе и анализе научного материала, а также публикации статей по материалам работы.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация Д.С. Калининой представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, изложенным в Постановлении Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 «Положение о присуждении ученых степеней».

На заседании 20 июня 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Д.С. Калининой ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

В заседании диссертационного совета и тайном голосовании приняло участие 16 членов совета (в том числе 11 докторов наук по специальности



03.03.01 – Физиология) из 22, входящих в его состав. Результаты голосования: за присуждение ученой степени - 16, против присуждения ученой степени - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета

академик



Н.П. Веселкин

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор биологических наук

Р.Г. Парнова

20 июня 2017 г.