

ОТЗЫВ

научного консультанта по докторской диссертации Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» по специальности 03.03. 01. – физиология

Карантыш Галина Владимировна закончила Ростовский Государственный Университет (РГУ) в 1998 году, после чего поступила в магистратуру в Ростовский Государственный Педагогический университет (РГПУ). В 1999 году, закончив обучение в магистратуре, поступила в аспирантуру по кафедре возрастной анатомии и физиологии человека РГПУ, в 2001 году защитила кандидатскую диссертацию по специальности 03.03.01 - физиология. С 2001 года работает на кафедре анатомии и физиологии детей и подростков РГПУ (с 2006 года - Южного федерального университета), в 2005 году получила звание доцента по кафедре анатомии и физиологии детей и подростков. Карантыш Г.В. проявила себя ответственным и квалифицированным специалистом в области физиологии. С 2008 года является заведующей лабораторией «Функциональной диагностики» Южного федерального университета (ЮФУ). В настоящее время Карантыш Г.В. является ведущим преподавателем кафедры по преподаванию курсов «Возрастная анатомия и физиология», «Психофизиология интеллектуальной деятельности», «Психофизиология детей с особыми образовательными потребностями», «Анатомия, физиология и патология органов слуха, зрения и речи», «Психофизиология профессиональной деятельности».

Работу по докторской диссертации Карантыш Г.В. выполняла в лаборатории биохимических механизмов адаптации на базе кафедры анатомии и физиологии детей и подростков Ростовского Государственного Педагогического университета (в последствие ЮФУ), лаборатории физиологии и биохимии нейропептидов Научно-исследовательского института им. Когана ЮФУ, лаборатории молекулярно-химической биохимии Научно-исследовательского института Биологии ЮФУ. Также часть работы Карантыш Г.В. выполняла в лаборатории функциональной биохимии нервной системы Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, где проходила кратковременную стажировку.

В процессе выполнения диссертационной работы Карантыш Г.В. проявила себя инициативным, грамотным специалистом. По теме диссертационной работы Карантыш Г.В. опубликовано 57 работ, в том числе, 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК к защите докторских диссертаций и 1 монография. Карантыш Г.В. выступала на конференциях Всероссийского и Международного уровней с докладами, в качестве Ученого секретаря принимала участие в организации конференции «Нейрохимические подходы к исследованию функционирования мозга» (Ростов-на-Дону, 2011).

Заведующий кафедрой анатомии и физиологии
детей и подростков ФГАОУ ВПО
«Южный федеральный университет»,
д.б.н., профессор

А.М. Менджеричкий

Подпись
заверено
Дата
[Синий круглый штамп Южного федерального университета]

Подпись
А.М. Менджеричкий

Подпись
(Е.А. Баранов)

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
эволюционной физиологии и биохимии им.
И.М. Сеченова Российской академии наук
д.м.н., профессор, академик РАН



Н.П. Веселкин

_____ апреля _____ 2014 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической ценности диссертации Карантыш Галины Владимировны на тему «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 03.03.01 – физиология.

1. **Актуальность избранной темы.** Одной из важных фундаментальных проблем нейробиологии и медицины является исследование адаптивных реакций нейронов мозга и всего организма на воздействие внешней среды, особенно при действии повреждающих факторов. Особое внимание нейробиологи уделяют проблемам формирования центральной нервной системы, ее развития в критические периоды раннего онтогенеза и в процессе старения.

К настоящему времени накоплено большое количество данных о роли экзогенных и эндогенных механизмах устойчивости мозга к стрессорным факторам. Выявлены функциональные особенности адаптивных реакций разных нейрохимических систем (медиаторных, ферментативных, свободнорадикальных, протеолитических и т.д.) и поведенческих реакций у особей с разным уровнем устойчивости к стрессу. Несмотря на то, что все эти вопросы широко исследуются, до сих пор нет цельного представления как об индивидуально-типологических и популяционных, так и онтогенетических механизмах резистентности мозга к ишемии/гипоксии. В частности, большой интерес представляет проблема нейрональной пластичности. Новым, но интенсивно исследуемым в нескольких научных группах, является вопрос о роли протеолитического фермента каспазы-3 в обеспечении нейрональной пластичности и реализации когнитивных функций в онтогенезе в норме, после ишемии или гипоксии, а также после введения пептидных препаратов.

В связи с этим вопросы, поднимаемые в диссертационной работе Г.В. Карантыш, связанные с изучением различных механизмов толерантности мозга к ишемии/гипоксии, являются актуальными для современной нейронауки и клинической медицины.

2. Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства. Направленность диссертационной работы соответствует тематике фундаментальных исследований по проблеме разработки комплексов для коррекции психических и психосоматических расстройств и предотвращения развития нейродегенеративных болезней.

3. Новизна исследования, полученных результатов и выводов обусловлена тем, что автором в контексте онтогенетических изменений функционального состояния мозга была показана взаимосвязь между уровнем обучаемости животных и активностью фермента, обладающего проапоптотическим действием, - каспазы-3. Автором впервые установлено, что устойчивость животных к окклюзии сонных артерий зависит от характера изменений уровня норадреналина и интенсивности свободнорадикальных процессов в мозге. В том числе, показано, что в условиях стресса более высокий уровень норадреналина в мозге у крыс положительно коррелирует с уровнем устойчивости к окклюзии сонных артерий. Также автор впервые показал, что способность к обучению у животных с разным латеральным профилем соотносится с уровнем интенсификации свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий. Впервые Г.В. Карантыш провела сравнение эффективности пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельтарана) на обучаемость, а также на структуру поведения крыс разного возраста, в результате чего установлены отдельные механизмы, лежащие в основе онтогенетических особенностей реагирования организма на воздействия разной интенсивности.

4. Значимость для науки и практики полученных результатов определяется тем, что автором показаны онтогенетические особенности взаимосвязи уровня обучаемости и активности каспазы-3 в мозге крыс. Автором был выявлен ряд нейрохимических критериев устойчивости к ишемии/гипоксии мозга у особей с разным латеральным профилем, что Г.В. Карантыш определяла по показателю выживаемости и поведенческим тестам. Так, установленные данные о характере изменения содержания норадреналина, интенсивности свободнорадикальных процессов в мозге у животных с разным латеральным профилем, могут быть использованы для разработки фармакологических средств, повышающих устойчивость организма к ишемии/гипоксии. Полученные

результаты исследования влияния пептидных препаратов при стрессовых воздействиях на функциональные показатели мозга животных разного возраста могут лечь в основу концепции онтогенетической специфичности эффектов нейропротекторных препаратов.

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Полученные Г.В. Карантыш результаты и выводы могут быть использованы в курсе лекций на биологических факультетах Университетов и в медицинских ВУЗах. Данные о характере влияния пептидных препаратов на адаптационные реакции организма можно рекомендовать к использованию в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН; Российском геронтологическом научно-клиническом центре Университетской клиники ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова; РНИИ геронтологии Минздрава РФ (Москва); Самарском государственном медицинском университете; ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ и др. Также результаты исследования рекомендуется взять за основу для внедрения в практику акушерско-гинекологических учреждений, терапевтов и детских невропатологов.

Результаты исследования поведения и нейрохимического статуса животных разного возраста в условиях введения пептидных препаратов можно рекомендовать для дальнейшего применения в исследовательской работе в научно-исследовательских институтах и высших учебных заведениях, в том числе в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН; институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, НИИ Биологии Южного федерального университета; ФГБУ Науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», лаборатории общей физиологии и регуляторных пептидов МГУ им. М.В. Ломоносова и др.

6. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений подтверждена системным подходом к исследованию.

Достоверность научных положений не вызывает сомнений в связи с грамотным планированием работы, использованием в эксперименте современных методов исследования и достаточного количества экспериментальных животных. Достоверность выводов подтверждена тем, что автор использовала адекватные методы статистической обработки результатов, в том числе, дисперсионный и регрессионный анализы. Обоснованность сделанных заключений основывается на согласованности результатов исследования и научных выводов, сопоставлении собственных данных с существующими научными концепциями в области изучаемой проблемы.

7. Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению. Диссертационная работа Г.В. Карантыш построена по классической схеме, состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, двух глав, содержащих изложение результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, содержащей 517 источников, из них 247 отечественных и 270 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 66 таблицами и 52 рисунками.

Во введении Г.В. Карантыш обосновала актуальность темы диссертационной работы, представлены цель и задачи исследования, научная новизна работы, теоретическая и научно-практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

В первой главе автором проанализированы данные литературы по теме диссертационного исследования. В том числе, дан критический анализ по проблеме нейробиологических процессов, лежащих в основе поведенческих реакций в ответ на стрессорное воздействие в разные периоды онтогенеза. Особое внимание автор уделяет функциональным изменениям в головном мозге в ответ на гипоксическое воздействие, приходящееся на пренатальный период, а также адаптационным изменениям в стареющем мозге в норме и при ишемии/гипоксии.

В обзоре литературы автор обосновывает актуальность исследования роли функциональной межполушарной асимметрии (ФМА), как одного из эндогенных механизмов, определяющих толерантность мозга к стрессовым факторам и общую стратегию адаптационных реакций организма. В данном разделе Г.В. Карантыш объясняет необходимость исследований роли ФМА в устойчивости к ишемическому повреждению мозга только у животных репродуктивного возраста, опираясь на онтогенетическую гипотезу межполушарной асимметрии мозга.

В следующем разделе обзора литературы Карантыш Г.В. рассматривает вопросы, касающиеся методов исследования поведенческих реакций, нейрохимических механизмов регуляции поведения, в том числе подробно описана роль протеолитического фермента каспазы-3 в нейрональной пластичности в норме и условиях стресса. В разделе 1.4. обсуждается роль пептидов и нейромедиаторов в регуляции функции мозга. В том числе приведены данные о регуляции пептидами механизмов, определяющих формирование разнообразных форм обучения в процессе адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды.

Во второй главе описана постановка эксперимента на животных, модели стресса (пренатальная гипобарическая гипоксия, острая гипоксическая гипоксия, окклюзия сонных артерий и окклюзия средней мозговой артерии), тесты для изучения поведения

(тест открытого поля, условную реакцию активного избегания, водный лабиринт Морриса). Определение ЛПП был проведен в Y-образном лабиринте. Автором описаны методы оценки неврологических нарушений и объемов инфарктов мозга у животных в модели окклюзии средней мозговой артерии. Также описаны методы исследования нейрохимических показателей: методы определения содержания моноаминов, активности МАО-А, активности и содержания каспазы-3, а также некоторых показателей свободнорадикальных процессов. В сыворотке крови 18-месячных крыс проведено исследование содержания интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли.

В третьей главе Г.В. Карантыш представляет результаты исследования влияния ишемии/гипоксии мозга на разные функциональные показатели у экспериментальных крыс. У животных разного возраста изучены показатель обучаемости в лабиринте Морриса и отдельные нейрохимические механизмы адаптации к предъявляемым стрессовым факторам. В данном разделе диссертации также представлены результаты исследования влияния окклюзии средней мозговой артерии и окклюзии сонных артерий на поведенческие реакции и ряд функциональных показателей мозга у 3-4-месячных крыс.

В четвертой главе Г.В. Карантыш описывает результаты исследований влияния пептидных препаратов на поведение в открытом поле, латентное обучение и нейрохимические показатели крыс разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга. В конце данной главы автор представила результаты дисперсионного анализа сравнения исследованных показателей.

В заключении Г.В. Карантыш проводит анализ полученных результатов, на основании которого сформулировала гипотезу о механизмах действия ишемии/гипоксии мозга на поведение и нейрохимические показатели крыс разного возраста. Тем не менее, несмотря на обширный экспериментальный материал, интересные результаты исследования, недостатком диссертации Г.В. Карантыш является не достаточно четко сформулированная в заключении концепция проведенного исследования. Из более мелких замечаний необходимо отметить то, что рисунок 23 подразумевает гистологическую работу, не описанную в методах, и не все сокращения пояснены в тексте.

Далее представлены выводы, которые основаны на фактическом материале и соответствуют задачам, поставленным диссертантом в работе.

В качестве дискуссии хотелось бы получить от автора ответы на следующие вопросы:

1. Почему пептидные препараты вводили в разных дозировках? Можно ли в этом случае сравнивать их эффекты?
2. Автор не дает объяснения того, с чем связаны различия взаимосвязи уровня обучаемости животных и активности каспазы-3 в мозге животных разного

возраста. Как можно интерпретировать результаты, согласно которым у 21-дневных крыс и 18-месячных животных существует взаимосвязь между данными показателями в виде перевернутого колокола, тогда как у 3-4-месячных животных выявлена обратная зависимость?

3. Чем можно объяснить тот факт, что более высокая устойчивость к ишемии/гипоксии мозга свойственна животным, у которых выше уровень норадреналина в мозге после перенесенного стресса?
4. Почему в работе приведен анализ результатов исследования активности каспазы-3 в разных экспериментальных моделях, но недостаточно обсуждаются результаты изучения содержания активной каспазы-3? Как можно интерпретировать данные о содержании каспазы-3 в мозге? Соотносятся ли они с приведенными результатами исследования активности каспазы-3?

Все выше перечисленные замечания и вопросы не снижают важности полученных в диссертационной работе Г.В. Карантыш результатов.

8. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации Г.В. Карантыш .

9. Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати. По теме диссертационной работы Карантыш Г.В. опубликовано 58 научных трудов, в том числе, 15 статей, рекомендованных ВАК РФ, а также 1 монография, что является достаточным для защиты диссертации на соискание доктора наук. В публикациях отражена большая часть материала, вошедшего в диссертационное исследование.


10. Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Таким образом, диссертация Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения об онтогенетических особенностях функционирования мозга в норме и при воздействии ишемии/гипоксии, о роли эндогенных (функциональная межполушарная асимметрия) и экзогенных (пептидные препараты) в устойчивости к стрессу, совокупность которых

можно квалифицировать как научное достижение, что соответствует требованиям п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 30.01.2002 г. № 74 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 20.06.2011 г. № 475), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.03.01 - физиология.

Обсуждение диссертации Г.В. Карантыш проведено на заседании лаборатории 5 и 10 ИЭФБ РАН (протокол №4 от 15.04.14).

Заведующий лабораторией сравнительной физиологии и патологии ЦНС Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, д.б.н.



И.А.Журавин



Поставил руки
И.А. Журавин
21.04.2014

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Карантыш Галины Владимировны на тему: «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

1. Актуальность избранной темы.

На протяжении последних десятилетий наблюдается как увеличение доли лиц пожилого и старческого возраста в популяции населения, так и увеличение частоты ассоциированных с возрастом и ведущих к инвалидизации нейродегенеративных заболеваний, что, несомненно, свидетельствует об актуальности диссертационного исследования Г.В. Карантыш. Нейродегенеративные процессы развиваются как при физиологическом старении, так и при гипоксически-ишемическом поражении мозга, которому в настоящее время придают ведущую роль в развитии этой патологии на разных этапах онтогенеза. Среди возможных механизмов действия гипоксии на уровне клеток мозга рассматривают нарушения баланса нейромедиаторов и продуктов их обмена, структурно-функциональных свойств клеточных мембран. В условиях гипоксии изменяется работа генетического аппарата клетки, инициируется транскрипция специфических генов, ответственных за программируемую гибель клетки.

Одним из перспективных путей коррекции негативных последствий гипоксии является использование пептидных биорегуляторов. В последнее время отмечается тенденция к более широкому применению препаратов пептидной природы при различных заболеваниях, сопровождающихся нейродегенеративными процессами, в том числе, в детской неврологии. Появились наблюдения, свидетельствующие о том, что характер развития нейродегенеративных процессов на разных этапах онтогенеза может различаться, причем эти различия могут определяться возрастными особенностями функционирования ряда систем мозга, в частности, - протеолитической. Например, гипоксически-ишемическая нейродегенерация с преобладанием апоптоза у взрослых особей обусловлена активацией каспазного каскада, а у новорожденных - активацией преимущественно каспазы-3. Все это определило актуальность проведенного Карантыш Г.В. исследования.

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

Обоснованность и достоверность результатов диссертационного исследования Карантыш Г.В. обеспечивается непротиворечивостью его исходных теоретических положений, внутренней логикой исследования, применением надежных и апробированных методов, адекватных поставленной цели и задачам исследования, репрезентативностью выборки, корректной интерпретацией и количественным анализом полученных данных с использованием методов математической статистики, применяемых для медицинских и биологических исследований. Автором использованы стандартные методы для изучения поведенческих реакций животных, широко используемые модели гипоксии и ишемии мозга, методы оценки морфологических изменений в ответ на стрессовое воздействие, ряд биохимических методов, адекватных поставленной цели исследования. Обоснованность научных положений и выводов исследования подтверждается сопоставлением собственных результатов с данными литературы.

3. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В соответствии с поставленной целью исследования автором логично сформулированы его задачи, для решения которых были использованы современные информативные, апробированные методы исследования.

Достоверность проведенного автором исследования подтверждается большим экспериментальным материалом, весьма значительным количеством использованных животных. Так, для изучения онтогенетических особенностей поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в ответ на ишемию/гипоксию диссертантом использовано 508 крыс 3-недельного возраста, 668 беспородных и 200 крыс линии Вистар 3-4-месячного возраста, 315 крыс 18-месячного возраста, 98 беременных беспородных крыс.

Основные положения, выносимые на защиту, обладают необходимой новизной, актуальностью и практической значимостью. В работе был использован комплексный подход к решению поставленной проблемы, на основании которого автором впервые было показано, что между показателем обучаемости и активностью проапоптотического фермента каспазы-3 в мозге существует нелинейная зависимость: у молодых и 18-месячных крыс эта зависимость имеет вид перевернутого колокола, а у животных

репродуктивного возраста существует обратная взаимосвязь этих показателей. Автором впервые проведен сравнительный анализ влияния трех пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельтарапа) на поведенческие показатели животных разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга, исследованы отдельные механизмы действия этих препаратов. В том числе, Караныш Г.В. показала, что наибольшим влиянием на адаптивные перестройки поведения и нейрохимического статуса крыс разного возраста обладает дельтарап. Впервые выявлены различия в динамике содержания нейромедиаторов в мозге крыс с разным латеральным профилем, подвергнутых двусторонней окклюзии сонных артерий: установлено, что у особей, обладающих более высокой устойчивостью к данному виду стресса в мозге содержание норадреналина выше, чем у крыс с низким уровнем резистентности. Впервые выявлены различия в характере изменения интенсификации свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий между животными с право- и леволатеральным профилем; данные различия коррелируют со способностью к выработке условной реакции активного избегания этих животных.

Таким образом, представленный материал содержит новую информацию, которая адекватно сопоставлена с данными литературы. Выводы, приведенные в работе, обоснованы и логичны, опираются на экспериментальные данные и результаты статистической обработки материала, представляют логическое завершение проведенного научного исследования.

Работа содержит:

- введение, где автор обосновала необходимость комплексного подхода к исследованию онтогенетических особенностей поведенческих реакций на стрессовое воздействие;
- обзор литературы, где достаточно полно представлено современное состояние исследуемой проблемы;
- главу, посвященную описанию методов исследования;
- главу, содержащую изложение результатов, обсуждение, выводы и список литературы, включающий 517 источников, из них – 247 отечественных.

Текст диссертации изложен на 308 страницах машинописного текста, включает, содержит 66 таблиц и 52 рисунка.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Основные результаты диссертации опубликованы в 57 печатных работах (в том

числе, в 15 публикациях в журналах, рекомендованных ВАК), обсуждались на всероссийских и международных конференциях, положительно оценены ведущими специалистами.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Значимость для науки данной работы состоит в выявлении возрастных изменений поведения и ряда нейрохимических показателей крыс в норме и при воздействии ишемии/гипоксии мозга, а также в ответ на введение пептидных препаратов. Эти результаты позволили автору показать взаимосвязь онтогенетических изменений метаболических показателей и поведения животных в разных экспериментальных моделях, т.е. установить характерные для каждого рассматриваемого возрастного периода механизмы, лежащие в основе адаптации к стрессу.

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что, они позволяют рекомендовать разные подходы к планированию терапии пептидными препаратами в неврологической практике у пациентов разных возрастных групп, исходя из полученных данных о существовании зависимых от возраста изменений протеолитической активности, содержания медиаторов и интенсификации свободнорадикальных процессов в мозге у животных в ответ на стрессовое воздействие.

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные результаты и выводы диссертации соискателя могут быть рекомендованы для использования в клинической практике неврологических отделений. Автором установлено, что при ишемии/гипоксии мозга исследованные пептидные препараты повышают адаптационные резервы организма, улучшают способность к обучению и сохранению приобретенного навыка. Эти наблюдения позволяют рекомендовать препараты кортексин, пинеалон и дельтаран к применению в качестве сопутствующей терапии при гипоксии плода, транзиторных ишемических атаках и инсультах.

Определение содержания интерлейкинов в сыворотке крови можно рекомендовать ввести в схему диагностики состояния пациента, что позволит адекватно оценить эффективность терапевтических мероприятий, применяемых при лечении ишемических нарушений в работе мозга. Согласно результатам проведенного соискателем

исследования изученные пептидные препараты, особенно, дельтаран, показали высокую эффективность на снижение содержания фактора некроза опухоли в сыворотке крови в моделях ишемии/гипоксии мозга. В связи с этим данные препараты могут быть рекомендованы в качестве средств, снижающих длительность реабилитации после инсульта.

6. Оценить содержание диссертации, ее завершенность.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, двух глав, содержащих изложение результатов исследований, заключения, основных выводов, списка использованных источников. Работа иллюстрирована рисунками и таблицами.

Во введении соискатель обосновала актуальность темы, сформулировала цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и научно-практическую значимость работы и положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы Карантыш Г.В. проанализировала литературу по направлению исследования. В первой подглаве обзора автор представила современные данные литературы о нейробиологических процессах, участвующих в регуляции адапционных реакций в разные периоды онтогенеза. Особое внимание соискатель уделила пренатальному периоду онтогенеза и процессу старения. Указывая на то, что в период репродуктивной зрелости устойчивость организма к стрессу наиболее высока, автор отмечает, что одним из эндогенных механизмов, обеспечивающих данную особенность, является функциональная межполушарная асимметрия (ФМА). Карантыш Г.В. приводит данные литературы о том, что именно в период репродуктивной зрелости наиболее выражена роль ФМА, ссылаясь на онтогенетическую теорию ФМА. Далее автор рассматривает вопросы, касающиеся разных методов исследования поведения, механизмы регуляции поведения, в частности, достаточно подробно описана роль протеолитических ферментов в пластических процессах в нервной системе, а также нейромедиаторов и пептидов в регуляции поведения.

Во 2-ой главе Карантыш Г.В. подробно описала постановку эксперимента на животных (были использованы животные трех возрастных групп), экспериментальные модели ишемии/гипоксии мозга (пренатальная гемическая и гипобарическая гипоксическая гипоксия, острая гипоксическая гипоксия, окклюзия сонных артерий и окклюзия средней мозговой артерии). Также в работе изучена структура поведения стандартным методом (тест открытого поля), способность к обучению животных

методами условной реакции активного избегания, водного лабиринта Морриса. На 3-4-месячных крысах был проведен эксперимент, в котором была изучена роль моторной латерализации в устойчивости к окклюзии сонных артерий. Определение латерального профиля было проведено в Y-образном лабиринте. Для оценки поведенческих и морфологических изменений в мозге при окклюзии средней мозговой артерии использованы неврологические шкалы и методы измерения объемов инфарктов мозга у животных. Для изучения механизмов, определяющих различия поведенческих реакций в разных экспериментальных моделях было проведено исследование содержания моноаминов, активности моноаминоксидазы-а, активности и содержания активной каспазы-3, отдельных показателей свободнорадикальных процессов. В сыворотке крови 18-месячных животных было исследовано содержание интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли.

В 3-й и 4-й главах автор представила результаты исследования влияния ишемии/гипоксии мозга на функциональные показатели крыс разного возраста: проанализировано влияние стресса на латентное обучение в лабиринте Морриса и нейрохимические показатели. Также описаны результаты исследования влияния окклюзии средней мозговой артерии и окклюзии сонных артерий на поведенческие реакции и ряд функциональных показателей мозга 3-4-месячных крыс. Автором приведены результаты исследования влияния кортексина, пинеалона и дельтарана на поведенческие и нейрохимические показатели крыс разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга. Полученные результаты подвергнуты корректной статистической обработке, в том числе приведены результаты дисперсионного анализа при сравнении исследованных показателей.

В заключении соискатель представила обсуждение полученных результатов, сформулировала гипотезу о механизмах влияния ишемии/гипоксии мозга на поведение и нейрохимические показатели крыс разного возраста.

Выводы и практические рекомендации основаны на фактическом материале и соответствуют задачам, поставленным диссертантом в работе.

Автореферат диссертации и опубликованные по теме научные работы полностью соответствуют цели и основным положениям выполненной работы.

7. Достоинства и недостатки диссертации.

Удачное сочетание использования поведенческих тестов и изучения нейрохимических показателей в разных экспериментальных моделях диссертационной

работы придает ей вид многогранного, комплексного и, при этом, завершенного труда. В работе рассмотрены вопросы эндогенных (ФМА) и экзогенных факторов (пептидные препараты), влияющих на устойчивость организма. Все это позволило автору корректно спланировать и выполнить эксперименты, сформулировать гипотезу о механизмах, лежащих в основе изменения адаптационных реакций в онтогенезе и прийти к адекватным выводам.

В качестве дискуссии хотелось бы получить от автора ответы на следующие вопросы:

1. Была ли использована оцифрованная камера для определения структуры поведения животных в тесте открытого поля или данный тест проводили рутинным методом?
2. В результатах исследования приведены данные дисперсионного анализа взаимосвязи изменения поведенческих и нейрохимических показателей животных разного возраста. Какие механизмы могут быть вовлечены в реализацию этих взаимосвязей?
3. Чем можно объяснить полученные различия в степени обучаемости и активности каспазы-3 у животных разных возрастных групп? С чем автор связывает тот факт, что в репродуктивном возрасте имеется обратная зависимость этих показателей относительно 21-дневных и 18-месячных крыс?
4. Существует ли аналогичная взаимосвязь содержания активной каспазы-3 с обучаемостью крыс или показатели активности и содержания активной каспазы-3 в мозге по-разному изменяются? В этом случае какова задача стояла перед автором, когда были приведены данные как активности, так и содержания каспазы-3?
5. Чем автор обосновывает использование в экспериментах разных дозировок пептидных препаратов?

Следует отметить, что в тексте встречаются опечатки и стилистически неудачные выражения. Список использованных сокращений не полон. Было бы целесообразно представить общую схему, иллюстрирующую концепцию выполненного исследования.

Приведенные замечания не снижают научной значимости результатов исследования, заданные автору вопросы имеют дискуссионный характер и не влияют на общее положительное впечатление от диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертация Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» на соискание ученой степени доктора наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, что соответствует требованиям п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 30.01.2002 г. № 74 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 20.06.2011 г. № 475), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.03.01 - физиология.

Руководитель отдела канцерогенеза и онкогеронтологии
НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова
Министерства здравоохранения РФ,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор



В.Н. Анисимов

*Подпись Анисимова В.Н.
заверено
зам. директора Шердаков А.М.*



ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **КАРАНТЫШ** Галины Владимировны
«Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в
мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.03.01 – физиология.

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются одними из самых широко распространенных патологий. Проблема ишемии/гипоксии мозга сохраняет чрезвычайную медицинскую и социальную значимость в связи с высокой частотой его развития, значительным процентом инвалидизации и смертности. Хорошо известно, что ишемия/гипоксия является одним из наиболее распространенных и клинически значимых стрессирующих воздействий, которым может быть подвержен человек. При этом, несмотря на то, что исследованию влияния гипоксии посвящено много работ, онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в ответ на ишемию/гипоксию мозга практически не изучены. Пристальное внимание физиологов и клиницистов привлекает, в частности, изучение последствий пренатальной гипоксии и поиск возможных путей их коррекции, так как гипоксия приводит к нарушению нормального постнатального развития потомства. Современная медицина располагает довольно широким перечнем соединений, обладающих определенным нейропротекторным действием, таких как модуляторы ионных каналов, соединения с анти-эксайтотоксическим действием, противовоспалительные агенты, соединения, понижающие уровень свободных радикалов, нейротрофические факторы. Однако ни одно из них не сочетает одновременно высокую эффективность, длительность действия, быстроту наступления эффекта и отсутствие негативных последствий. В поисках более эффективных и одновременно безопасных средств ученые обращаются к возможному использованию эндогенных регуляторов организма. В первую очередь внимание исследователей привлекают регуляторные пептиды, которые являются, прямо или опосредованно, универсальными регуляторами всех физиологических процессов, протекающих в организме.

В связи с вышесказанным, актуальность темы диссертационной работы Галины Владимировны Карантыш, посвященной изучению возрастных особенностей поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в норме и при ишемии/гипоксии мозга, выявлению роли функциональной межполушарной асимметрии в устойчивости к гипоксии, а также оценке возможности пептидергической коррекции вызванных ишемией/гипоксией нарушений, не вызывает сомнений. В соответствии с

поставленной целью исследования автор обоснованно формулирует его основные задачи, связанные с изучением функциональных показателей мозга на разных этапах онтогенетического развития в разных моделях ишемии/гипоксии.

В диссертационной работе Г.В. Карантыш впервые исследованы онтогенетические особенности адаптивной реакции организма при ишемическом/гипоксическом поражении мозга. Автором изучались изменения структуры поведения, способности к обучению и нейрохимические характеристики животных трех возрастных групп в различных моделях ишемии/гипоксии. Г.В. Карантыш впервые установила связь между возрастными изменениями активности одного из ключевых ферментов апоптоза – каспазы-3 и уровнем обучаемости животных. В модели окклюзии сонных артерий автором впервые установлено, что у крыс, более устойчивых к стрессу, в мозге выше уровень норадреналина. Г.В. Карантыш изучила роль функциональной межполушарной асимметрии в устойчивости организма к гипоксическим воздействиям. Кроме того, автором впервые исследованы эффекты пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельторана) в норме и в моделях ишемии/гипоксии на животных разного возраста. Таким образом, в изложенном материале содержится принципиально новая информация, представляющая ценность для физиологии, фармакологии и фундаментальной медицины.

Важной отличительной чертой диссертации Г.В. Карантыш является ее практическая направленность, удачно сочетаемая с фундаментальностью исследования. Теоретическое значение данной работы состоит в выявлении особенности изменения активности каспазы-3, содержания нейромедиаторов, показателей свободнорадикального окисления в мозге крыс разного возраста в ответ на ишемию/гипоксии и введение пептидных препаратов. Полученные результаты способствуют выяснению механизмов модуляции поведенческих реакций животных в ответ на воздействия разной интенсивности на различных этапах онтогенетического развития. Практическая значимость результатов исследования определяется выяснением онтогенетических особенностей реакции организма на введение пептидных препаратов как в норме, так и при ишемии/гипоксии мозга. Эти результаты могут послужить обоснованием для разработки стратегии применения пептидных препаратов у пациентов разных возрастных групп.

Диссертационная работа Г.В. Карантыш построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, двух глав, содержащих изложение результатов собственных исследований, заключения, основных выводов, списка использованных источников. Работа изложена на 308 страницах, содержит 52 рисунка и 66 таблиц. Список литературы включает 517 источников.

Во введении автором обосновывается актуальность темы, представлены цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и научно-практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы, представленный в первой главе диссертационного исследования, включает в себя анализ современного состояния проблемы и обоснование выбора направления исследования. Автором представлены современные данные о нейробиологических механизмах, лежащих в основе адапционных реакций организма на разных этапах онтогенеза. Даны понятия критических фаз развития, описаны функциональные изменения в головном мозге в ответ на стрессовое воздействие, приходящееся на пренатальный период. Также описаны нейрохимические механизмы в стареющем мозге.

Г.В. Карантыш обосновывает важность рассмотрения проблемы функциональной межполушарной асимметрии (ФМА) в контексте адапционных реакций. Основываясь на онтогенетической гипотезе межполушарной асимметрии мозга, автор объясняет предлагаемый ею подход к изучению роли ФМА у животных только репродуктивного возраста.

В обзоре литературы также подробно охарактеризованы современные методы исследования поведения животных. Автором представлены сведения о нейрохимических механизмах регуляции поведенческих реакций, о роли каспазы-3 в пластических перестройках нервной системы в процессе адаптации к стрессу. Изложены представления о роли апоптоза в норме и при действии повреждающих факторов. Также обсуждается роль пептидов и нейромедиаторов в регуляции функции мозга. Однако автором не представлены ранее полученные данные об изучаемых пептидных препаратах. Все эти препараты исследуются не впервые, и было бы логично представить в обзоре имеющиеся в литературе сведения. В качестве недостатка обзора литературы также следует отметить несколько избыточное количество аббревиатур, часть из которых отсутствует в предваряющем диссертацию списке сокращений.

Раздел "методы исследования" дает полное представление об экспериментальных подходах автора. Г.В. Карантыш характеризует объекты исследования, представляет дизайн экспериментов, использованные экспериментальные модели и исследуемые пептидные препараты, описывает физиологические и биохимические методы. В разделе подробно описана постановка эксперимента на животных трех возрастных групп, модели стрессового воздействия, в качестве которых были использованы пренатальная гемическая и гипобарическая гипоксическая гипоксия, острая гипоксическая гипоксия, окклюзия сонных артерий и окклюзия средней мозговой артерии. Для изучения

поведенческих реакций у животных Карантыш Г.В. использовала тест открытого поля, выработку условной реакции активного избегания, водный лабиринт Морриса. Часть экспериментов была проведена на животных с разным латеральным профилем. Также описаны методы оценки неврологических нарушений и объемов инфарктов мозга у животных после окклюзии средней мозговой артерии. Для изучения нейрохимических механизмов адаптационных реакций в мозге животных определяли содержание моноаминов, активность моноаминоксидазы-А, активность каспазы-3, ряд показателей свободнорадикальных процессов. При выполнении работы автором использован широкий спектр физиологических и биохимических методов.

Результаты проведенных исследований изложены в третьей и четвертой главах диссертации. В третьей главе представлены результаты изучения отставленных эффектов пренатальной гипоксии на различных сроках беременности крыс. Г.В. Карантыш показала, что наиболее выраженные нарушения наблюдаются у потомства крыс, перенесших гипоксическую гипоксию на 13-20 сутки беременности. Результаты, полученные при изучении эффектов пренатальной гипоксии, вызывают ряд вопросов. Беременных самок крыс многократно подвергали гипоксической гипоксии (от 3 до 10 раз в различных моделях). При изучении эффектов однократной гипоксической гипоксии у животных в возрасте 3-4 месяца автором зарегистрирована летальность на уровне 37,5%. Какой процент летальности наблюдался в случае беременных самок? Сравнивали ли величину выводков крыс в разных моделях пренатальной гипоксии? Этот показатель может отражать уровень пренатальной гибели животных. Эксперименты проводились на потомстве крыс, перенесших гипоксию, однако автором не указано использовались ли в экспериментах только самцы или крысы обоего пола? В группе крыс, перенесших пренатальную гипоксию на 13-20 сутки беременности, согласно табл. 4, $n=7$. Это один выводок? Эксперимент выполнен на потомстве одной крысы? К сожалению, в тексте диссертации это не указано.

Г.В. Карантыш провела исследование влияния острой гипоксической гипоксии и окклюзии сонных артерий на функциональные показатели крыс в возрасте 3-4 и 18 месяцев. Автором проанализировано влияние использованных воздействий на пространственное обучение в лабиринте Морриса, поведение в открытом поле и нейрохимические показатели. Проведенные исследования позволили автору выявить зависимость между уровнем обучаемости животных и изменением активности каспазы-3, а также продемонстрировать онтогенетические изменения в содержании биогенных аминов мозга крыс.

Следующий раздел диссертационной работы Г.В. Карантыш посвящен изучению роли функциональной межполушарной асимметрии мозга в устойчивости организма к ишемическим/гипоксическим воздействиям. Исследования проводились на моделях окклюзии средней мозговой артерии и окклюзии сонных артерий. Изучали влияние ишемии/гипоксии на уровень летальности, изменения массы тела, степень неврологического дефицита, объем инфаркта и выработку условного рефлекса активного избегания у крыс с разным латеральным профилем. В работе впервые показано, что животные с леволатеральным профилем обладают более высокой устойчивостью к стрессу, в том числе к нарушению мозгового кровотока, о чем свидетельствуют данные по влиянию окклюзии сонных артерий на выживаемость и сохранность выработанных условно-рефлекторных реакций. Устойчивость к окклюзии сонных артерий у крыс с разным латеральным профилем связана с особенностями перераспределения нейромедиаторов и показателей свободнорадикального окисления в структурах мозга.

В четвертой главе автором представлены результаты исследования влияния пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельторана) на поведение, обучение и нейрохимические показатели крыс разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга. Также в данной главе приведены результаты дисперсионного анализа сравнения исследованных показателей. Автором показано положительное влияние исследуемых препаратов на способность к обучению крыс разного возраста, перенесших гипоксическое воздействие. При этом препараты сохраняют свою эффективность как при пренатальном введении (на модели пренатальной гипоксии), так и при введении взрослым животным в модели ишемии/гипоксии. Г.В. Карантыш высказывает предположение о том, что эффективность влияния пептидных препаратов на обучение в моделях пренатальной и острой гипоксической гипоксии коррелирует с их влиянием на содержание активной каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста. Автор приводит коэффициенты корреляции между временем поиска скрытой платформы в тесте водный лабиринт и содержанием каспазы-3, и эти коэффициенты положительные. Однако увеличение времени поиска платформы свидетельствует о нарушении обучения, что и наблюдается в группах крыс, перенесших гипоксию. При этом гипоксия вызывает увеличение содержания каспазы-3. Введение пептидов приводит к снижению времени поиска платформы и увеличению содержания каспазы-3. Поэтому заключение о корреляции не совсем понятно и требует пояснения.

В заключении Карантыш Г.В. анализирует полученные результаты и сопоставляет их с данными литературы. На основании проведенного анализа автор формулирует

гипотезу о механизмах действия ишемии/гипоксии мозга на поведение и нейрохимические показатели крыс разного возраста.

На основании полученных результатов Г.В. Карантыш делает обоснованные выводы, которые представляют собой логическое завершение проведенного научного исследования. Выводы основаны на фактическом материале и соответствуют задачам, поставленным диссертантом в работе.

Основные результаты диссертации опубликованы в 57 печатных работах (из них 15 публикациях в журналах, рекомендованных ВАК), они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах. Автореферат диссертации и опубликованные по теме научные работы полностью соответствуют цели и основным положениям.

Полученные в диссертационной работе Карантыш Г.В. результаты могут послужить основанием для расширения спектра клинического применения изученных пептидных препаратов – кортексин, пинеалон и дельтаран можно рекомендовать для использования в неврологической практике. Согласно полученным автором результатам для анализа эффективности проводимой терапии в клинической неврологической практике можно рекомендовать определение содержания интерлейкинов в сыворотке крови пациентов.

Изучению негативных последствий ишемии/гипоксии мозга и поиску путей их коррекции посвящено большое число исследований. Однако использованный Г.В. Карантыш онтогенетический подход к данной проблеме определяет оригинальность и новизну проведенного исследования и является очевидным достоинством работы. К безусловным достоинствам работы Карантыш Г.В. можно отнести комплексный подход к исследованию адапционных реакций организма на разных этапах онтогенеза: автором использован широкий спектр современных методов, сочетающий поведенческие тесты и оценку нейрохимических показателей. Автором получен значительный по объему и разнообразию массив экспериментальных данных. Проведенные исследования позволили Г.В. Карантыш не только охарактеризовать негативные последствия ишемии/гипоксии у животных разного возраста, но и сформулировать гипотезу о механизмах, лежащих в основе изменения адапционных реакций в онтогенезе.

В качестве дискуссии хотелось бы получить от автора ответы на поставленные выше вопросы. К недостаткам работы следует отнести отсутствие единообразия при представлении экспериментальных данных, полученных в разных сериях экспериментов. Так, содержание биогенных аминов в мозге в разных таблицах указано в разных единицах (мкг/г, пг/г и даже мкг/мл). Параметры поведения крыс в открытом поле представлены то за 10 мин, то за 60 мин (а в табл. 42 за 1 мин, которая почему-то равна 600 сек). Такое представление данных затрудняет их сопоставление и снижает впечатление от работы.

Однако, все выше сказанное не снижает научной важности полученных результатов, заданные вопросы имеют дискуссионный характер и не влияют на общую оценку диссертационной работы.

В целом можно заключить, что диссертационная работа Г.В. Карантыш посвящена важной и актуальной проблеме, выполнена на высоком методическом уровне и содержит новые интересные экспериментальные данные. Полученные результаты имеют большое теоретическое и практическое значение. Выводы диссертационной работы обоснованы. Текст диссертации оформлен в соответствии с принятыми стандартами. Материалы диссертации полностью отражены в публикациях; основные результаты представлены в периодической печати и доложены на международных и Всероссийских конференциях. Автореферат по содержанию соответствует диссертации.

В заключение можно сделать вывод о том, что диссертационное исследование “Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии” является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, что соответствует требованиям “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842. Автор работы Галина Владимировна Карантыш заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Ведущий научный сотрудник Лаборатории
молекулярных основ регуляции поведения
Института молекулярной генетики РАН,
доктор биологических наук



/ Левицкая Наталья Григорьевна /

Подпись Н.Г. Левицкой заверяю

Зам. директора ИМГ РАН
д.б.н. Глозов Б.В.



26.04.2014

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология

Биологическая адаптация - приспособление организма к внешним условиям в процессе эволюции, включая морфофизиологическую, поведенческую и нейрохимическую и другие составляющие. Она обеспечивает выживаемость в условиях конкретного местообитания, а также успех в конкуренции с другими видами, популяциями, особями. Каждый вид имеет собственную способность к адаптации, ограниченную видовыми и индивидуальными особенностями. Этот постулат относится не только к животным (в частности крысам, явившимся объектом представленного на защиту исследования), но и человеку.

Диссертант затронула огромный пласт интереснейших и недостаточно изученных проблем. Это, прежде всего, онтогенетический аспект. Мне, как физиологу спорта, преподающему дисциплину «Возрастная физиология», рассматривающую закономерности формирования индивидуума в широком возрастном диапазоне – от момента зачатия до старости, несомненно крайне интересна информация о возрастных особенностях проявления стресс - реакций на разных уровнях жизни – от поведенческих реакций до тонких нейрохимических и нейромедиаторных клеточных и межклеточных механизмов мозговых тканей. Весьма важны как для физиологии, так и для клиники особенности полушарных изменений в связи с локализацией и характером ишемии/гипоксии. Нельзя не выделить раскрытые автором эффекты влияния некоторых широко распространенных в фармакологической практике пептидных препаратов и их зависимость от возраста «пациента».

Особенно следует отметить «лейтмотив» исследования, направленный на поиск взаимосвязи между изучаемыми физиологическими закономерностями и спецификой функциональной межполушарной асимметрии – правым и левым моторным профилем. Этот материал настолько заинтересовал меня как физиолога, более 20-ти лет пытающегося исследовать особенности двигательных и сенсорных проявлений межполушарной асимметрии, в том числе в возрастном аспекте, начиная с возраста 2-х лет, а также у спортсменов, специализирующихся в различных видах спорта, что возникла потребность (а теперь такая возможность появилась) познакомиться и с текстом диссертации. Не стоит забывать, что для элитных спортсменов в соревновательных условиях и при тяжелых тренировках также всегда характерен стресс, часто сопровождающийся серьезной гипоксемией и гипоксией, в том числе гипобарической (альпинизм, горный туризм).

Все вышесказанное позволяет согласиться со всеми аргументами, приводимыми диссертантом, и считать проведенное исследование актуальным и своевременным.

Материал диссертационного исследования объемён. Стоит лишь вспомнить о 1789 обследованных, в том числе моногибридных, крысах, о комплексном методическом подходе, современном оборудовании, скрупулезном соблюдении всех современных этических правил работы с животными. Использованные автором методики требуют высокого физиологического профессионализма исследователя, ювелирной методической подготовленности, глубоких знаний физиологии центральной нервной системы. Экспериментальный материал обработан адекватными методами математической статистики, очень подробно проанализирован с точки зрения новизны и в сравнении с литературными данными. Проведенный анализ литературы свидетельствует о достаточном общебиологическом и физиологическом кругозоре и компетентности автора.

Работа многогранно апробирована на международных и российских научных форумах различного ранга. Ее содержание отражено в 57 публикациях, в том числе в монографии и 15 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Поэтому можно с уверенностью утверждать, что представленное на защиту исследование отличается теоретической и практической значимостью, а диссертант и его идеи широко известны заинтересованной научной публике, что чрезвычайно важно для присуждения степени доктора наук.

Выводы соответствуют сформулированной цели и задачам исследования, основным положениям, выносимым на защиту. Важно, что они представляют собой глубокие и обоснованные трактовки физиологических закономерностей, достойные исследователя, претендующего на степень доктора наук. Приятно удивляет четкость, логичность аргументированный интегральный физиологический анализ полученных результатов.

В целом, знакомство с авторефератом позволяет заключить, что диссертационная работа Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» является законченным самостоятельным, логически завершённым научно-квалификационным исследованием, имеет фундаментальный характер и является крупным вкладом в развитие представлений о физиологических механизмах и особенностях адаптации организма разного возраста к стресс - реализующим факторам - перспективное направление в современной физиологии. Она имеет важное теоретическое и практическое значение, соответствует избранной специальности и в полной мере отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на степень доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология», в частности п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Постановления правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, а ее автор заслуживает искомой степени.

Доктор медицинских наук,
профессор, зав. кафедрой физиологии
ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма»
заведующий кафедрой физиологии
член-корреспондент Академии наук Кубани

Е.М.Бердичевская



16 мая 2014 года

Отзыв

на автореферат диссертации Г.В. Карантыш на тему «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии / гипоксии», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки).

Исследование закономерностей онтогенетического развития является одним из конструктивных принципов возрастной физиологии. Концептуальный аспект теоретического знания онтогенетических особенностей процессов роста, развития и формообразования определяет функциональные и адаптивные возможности организма, вектор поведения в ответ на стресс. При этом при исследовании процессов адаптации организма к стрессовым факторам особое внимание уделяется вопросам развития мозга в процессе онтогенеза, возрастной специфики изменений функциональной активности нейромедиаторских систем в мозге с целью выявления механизмов изменения поведения в ответ на стресс. Исследование принципов и механизмов организации адаптивного ответа на стрессогенные факторы, с учетом феномена гетерохронии онтогенетического развития мозга и состояния нейрхимических систем является актуальной задачей адаптивной физиологии.

В автореферате Г.В. Карантыш четко представлены механизмы пролонгированного влияния одних и тех же нейропептидов в разных моделях стресса и на разных этапах онтогенеза. Выбранный алгоритм проведения эксперимента, новизна, научная и практическая значимость диссертационной работы не вызывают сомнений. Адекватные методики, методология построения эксперимента позволили автору решить поставленные задачи, получить теоретически обоснованные выводы.

На достаточном репрезентативном материале выявлены возрастные особенности поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в норме и при гипоксии / ишемии мозга в моделях пренатальной и постнатальной гипоксии, окклюзии сонных артерий; установлена связь между особенностями изменения в содержании нейромедиаторов при стрессовых воздействиях и по-

веденческими реакциями животных разного возраста, выявлены причины низкой обучаемости животных в модели острой гипоксии. Данные могут быть использованы для определения стратегии применения пептидных препаратов в неврологической практике у пациентов разных возрастных групп. Полученные результаты могут также служить теоретическим обоснованием разработки новых подходов к терапии заболеваний, связанных с гипоксией / ишемией мозга; выявленные механизмы, лежащие в основе онтогенетических особенностей изменения поведения в ответ на стресс, являются концептуальной основой для разработки адекватных методов его коррекции, снижения влияния стресса на структуру поведения через введение пептидных препаратов.

Результаты исследования прошли широкую апробацию, доложены на научных мероприятиях различного уровня, опубликованы в 57 научных работах, в том числе 15 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ.

На основании изучения автореферата диссертации Г.В. Карантыш считаю, что диссертационная работа «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии / гипоксии», выполненная при научном консультировании доктора биологических наук, профессора Менджерицкого Александра Марковича, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки), является научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям, предъявляемым к докторским и кандидатским диссертациям ВАК Министерства образования и науки РФ, а сам соискатель заслуживает присвоения ему искомой ученой степени доктора биологических наук.

Доктор биологических наук,
профессор, зав. кафедрой физиологии
Адыгейского государственного университета



А.В. Шаханова

Заведующий кафедрой
Начальник управления кадров

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Карантыш Галины Владимировны на тему: «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» по специальности 03.03.01 – физиология на соискание ученой степени доктора биологических наук.

1. Актуальность избранной темы.

Актуальной задачей современной нейробиологии является исследование динамики структурно-функциональной организации головного мозга и поведенческих реакций в онтогенезе. Несмотря на большое число работ, посвященных исследованию эндогенных нейрохимических механизмов и факторов, регулирующих интегративную деятельность мозга, остается ряд невыясненных принципиальных вопросов, связанных с онтогенетическими морфофункциональными изменениями в работе мозга, которые обеспечивают оптимальные адаптивные перестройки организма в ответ на изменения внешней среды. Известно, что адаптивные реакции зависят от множества факторов, среди которых по своей значимости межполушарная асимметрия занимает особое место.

Поэтому представляется закономерным и своевременным рассмотрение вопроса о роли функциональной межполушарной асимметрии (ФМА) в адаптации к ишемии мозга разной интенсивности. Изучение динамических свойств межполушарной асимметрии существенно для диагностики и прогноза заболевания. Исследование коррекции ишемических/гипоксических поражений мозга пептидными препаратами, в настоящее время активно внедряемых в клиническую практику вызывает не только теоретический интерес, но может быть полезно для практической медицины.

В связи с этим выбранное соискателем научное направление исследования поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге в ответ на ишемию/гипоксию в онтогенетическом аспекте является актуальным и имеет очевидную практическую значимость.

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

Обоснованность и достоверность научных положений диссертационного исследования Г.В. Карантыш обеспечивается анализом большого количества собственных экспериментальных данных и источников литературы по проблеме онтогенетических характеристик адаптации, динамических свойств межполушарной асимметрии и пептидной регуляции деятельности мозга с применением апробированных методов, соответствующих поставленным цели и задачам исследования. На основании анализа большого количества литературных источников автор смогла обосновано сформулировать цели и задачи исследования, выполнить экспериментальную работу на достаточной по количеству выборке крыс разного возраста и получить серьезные научные результаты. Результаты исследования обработаны с использованием современных методов статистики, это позволило автору сопоставлять полученные результаты с работами отечественных и зарубежных авторов. Выше перечисленное свидетельствует об обоснованности основных положений диссертации, выводов и практических рекомендаций (указанных в разделе «Теоретическая и практическая значимость работы»).

3. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Достоверность полученных результатов исследования было обеспечено репрезентативностью экспериментальных выборок крыс разного возраста, а новизна исследования – оригинальным комплексным подходом к изучаемой проблеме. В работе проведен сравнительный анализ поведенческих, нейрохимических и морфологических показателей адаптационных реакций животных 21-дневного, 3-4-месячного и 18-

месячного возраста в разных моделях ишемии/гипоксии мозга. Автор использовала современные широко применяемые модели пренатального стресса (гемическую и гипобарическую гипоксическую гипоксию), острой гипоксической гипоксии, окклюзии сонных артерий и окклюзии средней мозговой артерии. Автором была обоснована постановка эксперимента по изучению динамических свойств функциональной асимметрии именно на 3-4-месячных животных. Динамические свойства межполушарной асимметрии были исследованы на этих животных в перекрестных моделях окклюзии сонных артерий и окклюзии средней мозговой артерии, что позволило автору получить новые результаты о роли ФМА в адаптационных реакциях организма.

Для изучения нейрохимических показателей Карантыш Г.В. использовала методы определения содержания нейромедиаторов, показателей свободнорадикального окисления и активности каспазы-3 как в коре больших полушарий, так и в стволовых структурах мозга. Такой подход отражает точку зрения автора о существовании не только асимметрии коры больших полушарий, но и подкорковых структур, совпадающую с данными многочисленных работ других исследователей.

Достоверность и новизна исследования, проведенного Карантыш Г.В., обеспечивалась проведением статистического анализа результатов, согласно которым, были выявлены связанные с возрастом изменения нейрохимических показателей, которые, по мнению автора, определяют возрастные особенности отдельных поведенческих реакций в норме и в условиях стрессового воздействия.

Новизна полученных в работе Карантыш Г.В. результатов также заключается в том, что автор впервые выявила возрастные особенности поведенческих показателей (в тесте открытого поля и уровню обучаемости в лабиринте Морриса) и реагирования исследованных нейрохимических параметров на введение трех пептидных препаратов. На основании данных исследований автор показала, что повышение эффективности препаратов

при ишемии/гипоксии мозга наблюдается в ряду: кортексин – пинеалон – дельтаран. Также впервые показано, что пептидные препараты (особенно, дельтаран и пинеалон) оказывают общесистемные эффекты на иммунную систему: при окклюзии сонных артерий (ОСА) у 18-месячных крыс данные препараты снижают содержание фактора некроза опухоли в сыворотке крови до уровня контроля. Этот факт автор правдоподобно объясняет тем, что пептидные препараты помимо общесистемных эффектов способны оказывать противовоспалительный эффект в мозге, снижая риск развития нейродегенеративных нарушений при ОСА.

Таким образом, в материале диссертации содержится новая достоверная информация, развивающая современным представлениям об адаптационных процессах в организме в ответ на ишемию/гипоксию мозга. Выводы следуют из полученных собственных экспериментальных данных.

Основные результаты диссертации опубликованы в 57 печатных работах, в том числе, в 15 публикациях в журналах, рекомендованных ВАК.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Теоретическая значимость полученных результатов состоит в выявлении функциональных показателей работы мозга, которые определяют возрастные особенности поведенческих реакций как в норме, так и условиях ишемии/гипоксии мозга. В том числе, значимость работы для науки состоит в определении роли протеолитической активности в адаптивных реакциях организма, а именно, в степени обучаемости животных разного возраста.

Теоретическая значимость изучения роли ФМА в устойчивости организма к стрессовым факторам разной интенсивности состоит в том, что автором показаны различия у животных с разной латеральностью выработки условной реакции активного избегания, активации у них

системы свободнорадикальных процессов в мозге в норме и при окклюзии сонных артерий. Также автором установлено, что устойчивость животных с разной поведенческой асимметрией не различается при окклюзии средней мозговой артерии.

Практическая значимость полученных автором результатов заключается, главным образом, в обосновании применения пептидных препаратов (кортексина, пинеалона и дельтарана) для коррекции ишемии/гипоксии мозга у животных разного возраста. На большом экспериментальном материале показано, что данные препараты повышают устойчивость организма к ишемии/гипоксии мозга.

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные результаты и выводы диссертационной работы соискателя можно рекомендовать как теоретический вклад, который может быть полезен при внедрении в практику неврологии новых методов и подходов для диагностики и лечения пациентов разного возраста.

Выявленные эффекты пептидных препаратов определяют значимость применения кортексина, пинеалона и дельтарана, вероятно, также могли бы быть полезны клинической практике для снижения осложнений перенесенных ишемических и гипоксических повреждений мозга как в гестационном периоде, так и у больных с транзиторными ишемическими атаками, инсультами, черепно-мозговыми травмами и т.д.

В условиях назначения основной, так и сопутствующей терапии при неврологических заболеваниях можно рекомендовать для оценки эффективности назначенного лечения дополнительное исследование в сыворотке крови пациентов фактора некроза опухоли.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенности.

Диссертация построена по классической схеме, содержит введение, обзор литературы, главы собственных результатов исследования, заключения, выводов и списка литературы.

Во введении автор обосновала актуальность исследования, логично сформулировала цель и задачи исследования, научную новизну исследования, положения, выносимые на защиту, теоретическую и практическую значимость работы.

В обзоре литературы Карантыш Г.В. привела данные литературы, опираясь на классические представления и используя последние разработки в области исследования онтогенетических механизмов адапционных реакций организма. Достаточно подробно автор описала процессы, происходящие в мозге, у животных разного возраста: особый акцент был сделан на проблеме пренатального стресса и старения. В разделе, посвященном роли функциональной межполушарной асимметрии в адапционных процессах, автор обосновывает свой подход к исследованию динамических свойств функциональной асимметрии у половозрелых особей. Также Карантыш Г.В. анализирует данные литературы о пластических свойствах нервной системы, в том числе, связанных с особенностями протеолитических процессов в разных функциональных состояниях, а также методах изучения поведенческих реакций у животных. В обзоре литературы также приведены данные о роли нейромедиаторов и пептидной регуляции в адапционных процессах организма.

В главе «Методы исследования» автор подробно описывает постановку эксперимента на животных 21-дневного, 3-4-месячного и 18-месячного возраста, модели ишемии/гипоксии мозга (пренатальной гемической и гипобарической гипоксической гипоксии, острой гипоксической гипоксии, окклюзии сонных артерий, окклюзии средней мозговой артерии). Также Карантыш Г.В. приводит методику разделения крыс на животных с разной латеральностью (в Y-образном лабиринте). Представлено описание методов определения неврологического статуса и оценки объемов инфарктов мозга у

животных, перенесших окклюзию средней мозговой артерии. Для оценки нейрохимических изменений в ответ на ишемию/гипоксию мозга автор использовала определение содержания нейромедиаторов, активности MAO-A, показателей свободнорадикального окисления и активности каспазы-3 в структурах мозга крыс (коре больших полушарий и стволовых структурах). Также кратко описаны методы статистической обработки результатов исследования.

В 3-й главе описания собственных результатов исследования Карантыш Г.В. представила данные о поведенческих реакциях организма и нейрохимических изменениях у животных в моделях ишемии/гипоксии мозга. Также в данной главе содержится раздел, касающийся описания результатов изучения роли ФМА в устойчивости организма в ответ на окклюзию сонных артерий и окклюзию средней мозговой артерии.

В 4-й главе результатов исследования представлены данные о влиянии препаратов пептидной природы на адаптационные реакции организма крыс разного возраста.

В заключении Карантыш Г.В. с использованием данных литературы проанализировала полученные результаты литературы, сформулировала гипотезу о механизмах действия ишемии/гипоксии мозга на поведенческие и нейрохимические показатели крыс разного возраста.

Выводы и практические рекомендации диссертационной работы Карантыш Г.В. основаны на фактическом материале и соответствуют задачам, поставленным диссертантом в работе.

7. Достоинства и недостатки диссертации.

Достоинствами диссертационного исследования Карантыш Г.В. являются: комплексный подход к решению проблемы изучения онтогенетических особенностей адаптационных реакций к ишемии/гипоксии мозга, роли ФМА и пептидной регуляции в этих процессах; адекватное сопоставление результатов с данными литературы;

значительный по объему и разнообразию материала обзор литературы; наглядность иллюстративного материала; корректная, в целом, статистическая обработка результатов исследования с использованием, в том числе, дисперсионного и регрессионного анализов.

Недостаток диссертации, по существу, один: это своеобразный стиль изложения, который в ряде случаев приводит к неясности содержания и даже неточностям, нередко некоторые тексты и ссылки не кажутся обязательными.

1. В первом абзаце диссертации и автореферата содержатся ссылки на работы древнегреческих философов, которые якобы сформулировали «вопросы индивидуального развития». В это трудно поверить, т.к. Левкипп не оставил после себя письменных текстов, Демокрит занимался вопросами атомарного строения Вселенной. Возможно, что-то сформулировал Аристотель, хотя неизвестно, что именно.

2. В работе некорректно используется термин «профиль асимметрии». Этот термин применяется в современной литературе, когда вместе сравниваются показатели асимметрии разных органов. Например, при изучении асимметрии рук, ног, глаза, уха и т.д. Поэтому говорить о профиле асимметрии на основании побегов в Y-образном лабиринте – некорректно.

3. Первый вывод написан непонятно. «В норме у крыс в структуре поведения с возрастом повышается время поведенческого сна, тогда как изменения других форм поведения (ориентировочного поведения, мелкой двигательной активности, груминга и релаксированного бодрствования) носят нелинейный характер». Непонятно, что такое нелинейный характер изменений, поскольку их может быть бесконечное множество?

4. В 3-м выводе и в соответствующем разделе результатов, говорится о том, что соотношения между скоростью обучения и каспазой-3

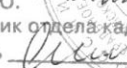
описываются кривыми, имеющими вид прямой и перевернутой колоколовидной кривой для разных возрастных групп. Однако для соответствия тех или иных кривых эмпирическим данным должен проводиться регрессионный анализ с указанием ряда статистических величин: уровня значимости модели, достоверности отличия коэффициентов регрессии от нуля и т.д. В работе эти данные не приводятся. Кроме того, приведенные на рисунке 52 эмпирические данные, на первый взгляд, кажется, не очень подтверждают теоретические кривые.

В целом, указанные недостатки принципиально не снижают той, большой и содержательной работы, которая представлена в диссертации Г.В. Карантыш.

8. Заключение

Таким образом, диссертация Карантыш Галины Владимировны «Онтогенетические особенности поведенческих реакций и функциональных изменений в мозге крыс в моделях ишемии/гипоксии» на соискание ученой степени доктора наук является научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований, разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, что соответствует требованиям п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 30.01.2002 г. № 74 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 20.06.2011 г. № 475), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Руководитель лаборатории возрастной физиологии мозга ФГБУ «Научный центр неврологии»
Российской медицинской академии наук,
доктор биологических наук, профессор  Фокин В.Ф.

ЗАВЕРЯЮ.
Начальник отдела кадров
Подпись  М.В. Ермольева
«07» 05 2014