

## ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу Ланшакова Дмитрия Александровича «Эффекты гипоксии и глюкокортикоидов на программируемую гибель клеток неонатального мозга», представляемую на соискание ученой степени к.б.н. по специальности 03.03.01 «физиология»

Диссертационная работа Ланшакова Д.А. посвящена изучению воздействия гипоксии и глюкокортикоидов на процессы апоптоза в головном мозге крыс в неонатальном периоде. Работа представляет интерес не только с точки зрения фундаментальной науки, но и для практического здравоохранения. Глюкокортикоиды применяются неонатологами и акушерами, несмотря на известные побочные эффекты. Механизмы развития этих эффектов не ясны, а стало быть, не разработаны эффективные методы их предупреждения и лечения. Именно это обстоятельство определяет высокую актуальность темы диссертации Дмитрия Александровича.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы полученными результатами и адекватны поставленным задачам исследования.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации. Д.А. Ланшаков впервые показал локализацию рецепторов глюкокортикоидов в разных типах клеток мозга неонатальных крысят и оценил влияние гипоксии и дексаметазона на клетки мозга. В работе впервые показана гибель клеток дорзального субикулума уже через 6 ч после введения дексаметазона и выявлена роль глутаматэргической эксайтотоксичности в этом процессе. Впервые показана активация нейронов CA1 гиппокампа и возрастание экспрессии гена c-fos под действием дексаметазона. Получены новые данные о роли апоптоза в реализации ответов неонатального мозга на гипоксию и введение дексаметазона.

Комплекс взаимодополняющих методов иммуногистохимии и молекулярной биологии, использованный в работе, а также объем исследованного материала и методы анализа данных определяют достоверность полученных результатов диссертационной работы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Д.А. Ланшаков получил новые данные об экспрессии рецептора глюкокортикоидов в разных типах клеток неонатального мозга крысят, которые послужат базой для дальнейших исследований влияния стрессовых факторов и лекарственных препаратов на развитие и функции головного мозга новорожденных. Происходящее в настоящее время расширение спектра вредных воздействий на плод в утробе матери, обусловленное вредными привычками, экологическими, пищевыми и другими факторами, делает острой проблему повреждения структуры и функций мозга плода в натальном и неонатальном периоде. Результаты диссертационной работы

Д.А. Ланшакова важны для понимания механизмов вредных воздействий на развивающийся мозг через глюкокортикоидные рецепторы, которые опосредуют важнейшие регуляторные процессы в клетках.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Экспериментальная модель, использованная в диссертации, соответствует стадии развития головного мозга человека в пренатальном периоде, что позволяет рассматривать полученные результаты в аспекте исследования влияния гипоксии и введения глюкокортикоидов на мозг новорожденных. Данные диссертационного исследования целесообразно проанализировать клиницистам, и учесть их при разработке методов лечения новорожденных. Несомненно, важным результатом, который должен получить применение в научных исследованиях, являются сведения о локализации рецепторов глюкокортикоидов в головном мозге.

#### Содержание диссертации.

Диссертация Д.А. Ланшакова выполнена в соответствии с традиционной схемой и представляет собой законченную научно-квалификационную работу. Обзор литературы дает исчерпывающее представление о степени изученности предмета диссертации и обосновывает необходимость данного исследования. Методы исследования описаны достаточно подробно. Результаты исследований изложены детально, хорошо проиллюстрированы и в полной мере проанализированы в главе «Обсуждение».

#### Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Раздел «Введение» содержит все необходимые части и достаточно полно освещает актуальность исследования, формулировки цели и задач исследования не вызывают возражений. Обзор литературы дает исчерпывающее представление об опубликованных исследованиях, связанных с тематикой работы, однако понимание текста обзора требует усилий. В тексте много лексических погрешностей, восприятие материала затрудняется неоправданно большим количеством аббревиатур. В «Обзоре литературы» встречаются неточности формулировок и определений. Так, на стр. 43 автор сообщает, что «Глутамат является аминокислотой», хотя аминокислотой является глутаминовая кислота, а глутамат – её анион, образующий соли с катионами и способный присутствовать в свободной форме в организме. В разделе, посвященном анализу механизмов программируемой клеточной гибели, также нет четкости. Например, «ПКГ это процесс, в то время как термин апоптоз, первоначально введенный цитологами, изначально описывал в основном лишь его морфологические проявления» (стр. 25, пунктуация автора сохранена). По прочтении всего раздела остаются непонятными взаимоотношения программируемой клеточной гибели и апоптоза, хотя в настоящее время ни у кого не вызывает сомнений, что апоптоз – один из вариантов программируемой клеточной гибели. Можно привести еще ряд «странных» выражений: «AMPA рецепторы проницаемы для натрия...» (стр. 44), «при эксайтотоксичности

наблюдается» (стр. 46) и др. Термин «эксайтотоксичность» определен автором как «концепция токсического эффекта от массивного воздействия возбуждающих аминокислот» (стр. 43). Такое определение и последующее использование термина Ланшаковым Д.А. делает текст соответствующего раздела малопонятным.

Глава «Материалы и методы» детально структурирована, методы подробно описаны и могут быть воспроизведены. Использованный комплекс методов соответствует современному уровню научных исследований и адекватен задачам диссертационной работы.

Глава «Результаты» дает полное представление о проведенной работе и полученных данных. К сожалению, как и в других разделах диссертации, текст лексически и стилистически не проработан, многие фразы непонятны. Так, на стр. 66 сообщается, что «... можно сделать вывод, что из изученных маркеров типов клеток GR в энтериальной коре и поле гиппокампа CA1, на третий день постнатального развития, наиболее колокализированы с маркером кальцитониновых интернейронов и в меньшей степени колокализированы с маркером астроцитов» (пунктуация автора). Несомненно, читателю диссертации «повезло», что основные результаты представлены в виде микрофотографий, и поэтому можно понять, что же наблюдал автор. Микрофотографии хорошего качества и полностью отражают полученные результаты. По существу, Д.А. Ланшаковым получены новые интересные результаты, достоверность которых не вызывает сомнений, однако, изложение результатов заслуживает строгой критики.

В главе «Обсуждение» результаты диссертационного исследования анализируются в аспекте экстраполяции на соответствующие состояния новорожденных, которые могут испытывать гипоксию в процессе родов. Адекватно спланированная и тщательно выполненная экспериментальная часть диссертации позволила получить данные о влиянии гипоксии и введения глюкокортикоидов на головной мозг новорожденных на клеточном уровне, приблизиться к пониманию роли апоптоза и эксайтотоксичности в изменениях головного мозга в перинатальный период.

Следует отметить, что сформулированные в работе выводы адекватны поставленным задачам и полученным результатам.

Диссертация оформлена в соответствии с правилами. Следует отметить, что аббревиатуры даны в основном в англоязычном варианте, хотя во многих случаях возможен русскоязычный (GR – глюкокортикоидный рецептор, NIF – транскрипционные факторы, индуцируемые гипоксией, HRE – гипоксия респонсивные (?) элементы) и др. Есть нерасшифрованные аббревиатуры (PBS в разделе «Материалы и методы»). Несомненно, диссертационная работа выглядела бы намного лучше, удели автор больше внимания лексике и смыслу употребляемых слов и выражений. Ограничусь замечанием: неверно употреблять оборот «эффект на», который фигурирует даже в названии диссертации.

Сделанные замечания не умаляют научной ценности диссертационной работы Ланшакова Д.А.

### Заключение

Диссертационная работа Ланшакова Дмитрия Александровича «Эффекты гипоксии и глюкокортикоидов на программируемую гибель клеток неонатального мозга» соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 ВАК Минобрнауки России, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 «физиология».

Официальный оппонент, руководитель группы микроскопических исследований института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Профессор, д.б.н.  
24.12.2014 г.



Е.И. Рябчикова

Подпись проф. Рябчиковой Е.И. заверяю.

Ученый секретарь института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

К.б.н.



Кабилев М.Р.