

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ
НАУК СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ

«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ
БИОЛОГИИ И БИОФИЗИКИ»

630117, Новосибирск, ул.Тимакова, 2/12

E-mail: imbb@niimbb.ru

Тел: (383) 335-98-47, 333-58-89

Факс: (383) 335-98-47, 335-95-58

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУ НИИ
Молекулярной Биологии и
Биофизики СО РАМН
академик РАН В.В. Ляхович



16 декабря 2014 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

**Ланшакова Дмитрия Александровича «Эффекты гипоксии и
глюкокортикоидов на программируемую гибель клеток неонатального
мозга», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология**

Исследование механизмов действия глюкокортикоидов и гипоксии на развивающуюся центральную нервную систему является **актуальной темой для науки и медицинской практики**. Одним из возможных путей действия глюкокортикоидов на развивающийся мозг может быть их влияние на молекулярные механизмы программируемой гибели клеток, определяющей жизнеспособность клеток ЦНС. Необходимость изучения влияния глюкокортикоидных гормонов на реализации программы апоптоза в ЦНС определяется ролью апоптоза как в формировании и нормальном развитии неонатального мозга, так и в различных патологических состояниях. Препараты глюкокортикоидов достаточно широко применяются в перинатальной медицине, поэтому важно знать, как глюкокортикоидные гормоны влияют на апоптоз в развивающейся ЦНС, поскольку программа апоптоза может изменить ход формирования головного мозга и его функций. Исследованию закономерностей

влияния глюкокортикоидов и гипоксии, на программируемую гибель клеток мозга в критический период раннего онтогенеза посвящена диссертационная работа Ланшакова Д.А.. Автором была исследована экспрессия глюкокортикоидных рецепторов в нейрональных и глиальных клетках в коре, субикулуме и гиппокампе неонатального мозга экспериментальных животных, изучены эффекты гипоксии и глюкокортикоидов на экспрессию ключевого белка апатоза - активной каспазы-3 в коре головного мозга, и исследован механизм индукции апоптоза глюкокортикоидами.

Основные научные результаты, полученные автором, являются **новыми**. Так, впервые показана локализация глюкокортикоидных рецепторов в субпопуляции интернейронов неонатального мозга, впервые определены типы клеток неонатального мозга, гибнущие при действии глюкокортикоидов, впервые получено подтверждение нейропротективного действия глюкокортикоидов, ослабляющего повреждение гипоксией клеток новой коры формирующегося головного мозга. Новыми являются также данные об участии глутаматэргической эксайтотоксичности в механизме индукции апатоза глюкокортикоидами в неонатальном мозге.

Значимость для науки результатов исследований заключается в том, что получены новые знания о влиянии гормонов стресса на запуск программируемой гибели в клетках развивающегося головного мозга и о механизмах индукции в них апоптоза. Установлены неизвестные ранее типы клеток, экспрессирующие глюкокортикоидный рецептор в коре неонатального мозга экспериментальных животных, определены типы клеток неонатального мозга, гибнущие при действии глюкокортикоидов, а также подтверждена возможность нейропротективного эффекта глюкокортикоидов на фоне такого патологического состояния как гипоксия мозга.

Практическое значение результатов работы определяется тем, что препараты глюкокортикоидов находят широкое применение в перинатальной медицине, а влияние глюкокортикоидов на предрасположенность клеток развивающегося мозга к запуску апоптоза может приводить к последующей

модификации нейрoхимии, поведения и других свойств организма в ходе его дальнейшего развития.

Диссертация построена традиционно, она изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов, результатов исследований и их обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 281 публикации. Работа содержит 38 рисунков и 4 таблиц.

Во введении обоснована актуальность проблемы и сформулирована цель настоящего исследования и конкретные задачи.

Обзор литературы содержит информацию о глюкокортикоидах и их влиянии на развитие организма, об апоптозе как ключевом процессе формирования организма, его значимости и молекулярных основах и молекулярных путях запуска апоптоза. Достаточно подробно рассмотрена роль других форм клеточной гибели и механизма клеточной гибели в результате эксайтотоксичности. И небольшая часть обзора посвящена гипоксии и глюкокортикоидам.

Обзор хорошо структурирован и логично подводит к обоснованности проводимого автором исследования.

В разделе Материалы и методы четко и ясно описаны использованные в работе молекулярно-биологические, иммунохимические и физиологические методики, включая адекватные методы статистической обработки.

Результаты исследования и обсуждение результатов, представленные отдельными главами, явились воплощением поставленных в работе задач. В ходе работы были определены экспрессия глюкокортикоидных рецепторов в мозге, влияние глюкокортикоида дексаметазона и гипоксии на общее развитие и морфологию головного мозга, а также на апоптоз клеток головного мозга, исследовано острое действие глюкокортикоидов на активность клеток гиппокампа и апоптоз клеток дорзального субикулума, изучено влияние блокады рецепторов глутамата на индуцируемую дексаметазоном гибель клеток субикулума. В разделе обсуждение результатов соискателем проведена оценка собственных результатов с привлечением большого количества свежих литературных данных.

Выводы, сделанные автором, соответствуют полученным результатам и поставленным целям и задачам.

Высоко оценивая содержательную и качественную работу Ланшакова Д.А., с сожалением приходится указать на недочеты в оформлении диссертации.

Во-первых, стоит заметить, что по номенклатуре названия генов пишутся курсивом. Далее, список сокращений составлен таким образом, что в нем присутствуют необязательные или однократно используемые сокращения (например, E_дата, P_день, ДЦП, IPCs), но в него не вошли столь важные для понимания текста названия специфических маркеров различных клеток и слоев мозга. Кроме этого сокращение GR используется для обозначения как глюкокортикоидного рецептора, так и зеленого флуорофора (Рис. 4).

Один из ключевых разделов в литературном обзоре, посвященный экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в головном мозге, написан очень невнятно и без особого анализа данных литературы. Стоило в обзоре уделить внимание таким значимым параметрам, исследуемым в работе, как специфические молекулярные маркеры различных клеток и слоев мозга, а также c-fos, роль которого в развитии апоптоза нейрональных клеток является предметом исследований последнего десятилетия.

В главе «Результаты» в подписи к Рисунку 4 нет расшифровки сокращений красителей; в тексте ни разу не упомянут представленный Рисунок 5; на Рисунке 10 название русскими буквами, а в подписи к рисунку те же термины на латинице; в Таблице 4 все параметры указаны в сокращении, но нет расшифровки этих сокращений ни в примечании к таблице, ни в списке сокращений.

В тексте есть орфографические ошибки, неудачные выражения и словосочетания, например «наиболее колокализуется, наиболее часто колакализован, колокализационные эксперименты, широко экспрессируется проведена иммуногистохимия, уровень активной каспазы-3» и т.п. И особенно неуместны подобные выражения в выводах.

Небрежность формулировок и стиль выводов, сделанных по результатам работы – это, пожалуй, самое главное замечание к оформлению диссертационной работы. В

выводе 1 «наиболее (наименее) колокализуется» - имеется в виду «в большей (меньшей) степени колокализован. В выводе 2 речь идет об уровне экспрессии активной каспазы-3, а не просто «уровне активной каспазы». В коротком выводе 3 для обозначения одного и того же употребляется одновременно «дексаметазон» и «DEX». Вывод 5 «В процессе гибели клетокучаствует глутаматергическая эксайтотоксичность» стоило перефразировать, чтобы было ясно, что речь идет о механизме.

Однако в целом работа Ланшакова Д.А. заслуживает положительной оценки. Научная новизна и значимость полученных им результатов не вызывают сомнений, результаты имеют как теоретическое значение для фундаментальных знаний в области физиологии неонатального мозга, так и практическое значение для будущего использования результатов в перинатальной медицине. Поставленные в диссертационной работе задачи выполнены в полном объеме. Данные экспериментов грамотно обработаны статистически и являются достоверными. Полученные диссертантом результаты являются оригинальными, выполнены на высоком научно-методическом уровне. Интерпретация экспериментальных результатов аргументирована. Сделанные выводы обоснованы.

Все результаты диссертации доложены и обсуждены на российских и международных научных конференциях и представлены в реферируемых русскоязычных и англоязычных изданиях. По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, включая 4 статьи.

Автореферат по составу представленных результатов и сделанным выводам идентичен таковому в тексте диссертации.

Оценивая работу в целом, можно заключить, что диссертация Ланшакова Дмитрия Александровича представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу. По актуальности темы, полноте поставленных и решенных задач, совокупности новых научных результатов и практической значимости диссертационная работа отвечает требованиям ВАК России, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук п. 9

«Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Ланшаков Дмитрий Александрович заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.0013 - физиология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на заседании Ученого совета ФГБУ НИИМББ СО РАМН 12 декабря 2014 г., протокол № 10.

Зав. лабораторией биохимии чужеродных соединений

ФГБУ НИИ Молекулярной Биологии и Биофизики СО РАМН,

доктор биологических наук, профессор



Гришанова А.Ю.

Личную подпись Гришанова А.Ю. подтверждаю
Начальник ОК ФГБУ «НИИМББ» СО РАМН
"16" декабря 2014 г.



В.Д. Шаймуратов