

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр клинической и экспериментальной медицины»  
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук  
(ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН)**

630117, Новосибирск,  
ул. Тимакова, 2

Тел./ факс (383) 333-64-56  
[sck@soramn.ru](mailto:sck@soramn.ru)

УФК по Новосибирской области  
(ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН  
л/счет 20516У61890)  
(ИНН 5408157430 КПП 540801001  
Р/сч. 40501810700042000002  
БИК 045004001  
в ГРКЦ ГУ Банка России  
по Новосибирской обл.  
г.Новосибирск

От 30.05.14 № 02-04/241  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН  
академик РАН, д.м.н, профессор  
Шкурूपий В.А.  
« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 г.



**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения РАМН о научно-практической значимости диссертационной работы Музыка Владимира Владимировича «Влияние глюкокортикоидов и гипоксии на ключевые белки апоптоза и их регуляторы в мозге неонатальных крыс», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

**Актуальность темы диссертационной работы и ее значимость для развития биологической науки**

Проведенные в последние три десятилетия XX века исследования позволили сформулировать основополагающие представления о том, что индивидуальные особенности реактивности нейроэндокринной системы, как и целого организма, зависят не только от наследственных факторов, но и от условий их формирования в раннем онтогенезе. Организм более чувствителен к неблагоприятным влияниям среды в пре- и раннем постнатальном периодах онтогенеза, когда происходит быстрое развертывание генетической программы и бурное развитие головного мозга. В это время даже относительно слабые воздействия, не вызывающие видимых морфологических повреждений, нередко сопровождаются длительными, а порой и постоянными нарушениями

нейроэндокринных и нейрохимических механизмов стрессорной реактивности. В течение внутриутробного развития и в раннем постнатальном онтогенезе выделяют так называемые критические периоды, когда чувствительность организма к различным внешним воздействиям чрезвычайно высока, а следовые реакции закрепляются на длительное время. В эти периоды происходит преобразование деятельности различных систем органов на иные уровни лабильности, обеспечивающие адаптацию к новым условиям среды. Критические периоды развития, когда неблагоприятные воздействия среды могут индуцировать необратимые изменения функций мозга, связаны с созреванием процессов клеточного метаболизма и с уязвимостью регуляторных метаболических цепей.

В настоящее время исследования в рамках этих актуальных для дальнейшего развития биологической науки представлений продолжаются, но уже на новом молекулярно-генетическом уровне. Так, показано, что для формирования дефинитивной структуры мозга необходима избирательная элиминация избыточного числа нервных клеток, которая осуществляется путем апоптоза. В свою очередь экспрессия белков программы апоптоза клеток центральной нервной системы находится под влиянием множества регуляторных факторов, среди которых важное место занимают глюкокортикоидные гормоны, реализующие эффекты внешних воздействий на физиологические процессы в организме. В этой связи целью диссертационного исследования Музыка В.В. стало изучение влияния глюкокортикоидных гормонов и гипоксии, а также их сочетания на экспрессию белков апоптозного каскада в отделах мозга неонатальных крысят.

Следовательно, тема диссертационного исследования Музыка В.В. с позиций фундаментальной физиологии является актуальной и может найти свое место при проведении дальнейших исследований нейроэндокринных и нейрохимических механизмов формирования чувствительности организма к эндогенным и экзогенным факторам на этапах онтогенеза.

### **Научная новизна полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертационной работе**

Первой задачей диссертационного исследования было изучить особенности экспрессии ключевых белков апоптозного каскада и форм мозгового нейротрофического фактора в отделах мозга неонатальных крыс. В рамках решения этой задачи автором впервые показана координированная экспрессия белков апоптозного каскада в неонатальном гиппокампе, но не в

стволе мозга, а также установлена обратная зависимость между отношением зрелой / незрелой форм мозгового нейротрофического фактора и уровнем активной каспазы-3 в отделах мозга на 8-ой день жизни неонатальных животных.

В рамках решения второй задачи впервые установлен антиапоптозный эффект гидрокортизона, но не дексаметазона, на экспрессию ключевых белков апоптоза и форм мозгового нейротрофического фактора в гиппокампе неонатальных животных. Эти результаты позволили автору сформулировать положение, что природные глюкокортикоидные гормоны, связывающиеся не только с глюкокортикоидными, но и с минералокортикоидными рецепторами, способны через них оказывать антиапоптозные эффекты на экспрессию белков в гиппокампе 8-дневных животных, учитывая, что именно в эти сроки экспрессия минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе уже достаточно высока. Обнаружено также наличие отложенного повышения уровня активной каспазы-3 в коре мозга неонатальных животных под действием дексаметазона через 120 часов после введения гормона.

Показано, что гипоксия и дексаметазон как отдельно, так и при их совместном применении повышают уровень мРНК антиапоптозного белка Bcl-XL в стволе неонатального головного мозга. При этом между эффектами гипоксии и дексаметазона в раннем онтогенезе наблюдается взаимодействие: устойчивый к каждому из факторов уровень белка Bcl-XL снижается в стволе головного мозга при введении дексаметазона после гипоксии, но применение гормона перед гипоксией к его снижению не приводит.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертационная работа оформлена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию материала и методов исследования, главы собственных результатов, обсуждения, выводов и списка цитированной литературы. Материал диссертации изложен на 131 странице машинописного текста, содержит 7 таблиц и 23 рисунка. Список цитированной литературы включает 227 источников, из них 225 иностранных.

Введение отвечает предъявляемым к диссертационной работе требованиям, в нем обосновывается актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, представлены положения, выносимые на защиту, которые сформулированы точно, корректно, полностью отражают содержание диссертационного исследования.

Аналитический обзор литературы изложен достаточно полно и охватывает различные аспекты современного состояния изучаемой проблемы, написан понятным, легко воспринимаемым языком. Обзор литературы содержит сведения о программируемой гибели клеток – апоптозе, и его молекулярных механизмах; о нейротрофинах, как регуляторах жизнеспособности и гибели нервных клеток; о роли глюкокортикоидных гормонов в регуляции апоптоза в развивающейся нервной системе; об эффектах гипоксии и совместном влиянии гипоксии и глюкокортикоидных гормонов на процессы апоптоза в развивающейся нервной системе.

В главе «Материал и методы» автор характеризует животных и применяемые экспериментальные воздействия; описывает выделение образцов ткани мозга, выделение РНК, получение кДНК, оценку уровней мРНК белка Bcl-XL методом ПЦР в реальном времени; выделение суммарного белка, его разделение методом гель-электрофореза и оценку уровней изучаемых белков методом полуколичественного иммуоблота.

Определив цель и задачи диссертационного исследования, в 3 главе, посвященной изложению результатов, автор последовательно описывает полученные данные, проводит их сопоставление и сравнительный анализ, делая логичные переходы от одного подраздела к другому.

При обсуждении результатов диссертационного исследования В.В. Музыка проводит достаточно полный анализ полученных данных с позиции современных знаний по изучаемой проблеме. В итоге он приходит к заключению, что белки апоптоза имеют высокую степень взаимосвязанности экспрессии в гиппокампе, но не в стволовой части мозга неонатальных животных и их экспрессия в его отделах не зависит от регулирующих влияний мозгового нейротрофического фактора на третий день жизни; гипоксия и глюкокортикоидные гормоны способны изменять уровни белков апоптоза в развивающемся головном мозге, при этом предгипоксическое применение дексаметазона, в отличие от постгипоксического, не приводит к изменениям уровней ключевых белков апоптозного каскада. Этот раздел диссертационной работы свидетельствует о способности автора к творческому мышлению и умении анализировать полученные результаты.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале, соответствуют поставленным задачам и отражают суть проведенного исследования.

## **Значимость для биологической науки и практики полученных автором диссертации результатов**

В работе получены новые фундаментальные результаты, свидетельствующие о влиянии гормонов стресса и гипоксии на экспрессию белков, определяющих жизнеспособность клеток развивающегося мозга.

Полученные результаты указывают, что эффекты пред- и постгипоксического применения синтетических глюкокортикоидных гормонов, в частности, дексаметазона, на экспрессию белков, регулирующих процессы выживания и гибели клеток развивающегося мозга, различны. Это необходимо учитывать в схемах коррекции глюкокортикоидными гормонами патологических состояний у новорожденных с недоразвитием легких и последующей асфиксией.

Полученные результаты могут быть также использованы для обоснования новых подходов к оценке риска развития нарушений нейрофизиологических процессов в головном мозге и формирования патологических процессов при воздействии на организм стресс-факторов в неонатальный период онтогенеза.

## **Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

В диссертационной работе хорошо продуман дизайн исследования, который определил логику выполнения всей работы и ее научную значимость. Полученный объем фактического материала полностью соответствует поставленной цели и задачам исследования. Использованные в работе методы современны, доказательны и позволили решить поставленные в диссертационном исследовании задачи. В диссертационном исследовании использованы адекватные методы статистического анализа. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основаны на достаточном фактическом материале. Выдвигаемые положения и заключения аргументированы полученными результатами.

## **Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы**

Полученные фундаментальные результаты важны для понимания основных механизмов формирования центральной нервной системы в динамике онтогенеза. Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты могут быть использованы при чтении лекций по физиологии, патологической физиологии, эндокринологии, перинатологии и педиатрии для студентов биологических и медицинских ВУЗов.

Диссертация представляет собой законченную работу, автореферат отражает ее основное содержание и включает все основные положения и выводы. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 3 статьи в отечественных рецензируемых журналах из списка ВАК.

Замечаний по содержанию, изложению результатов и оформлению диссертационной работы Музыка В.В. нет.

### Заключение

Диссертационная работа Музыка Владимира Владимировича на тему: «Влияние глюкокортикоидов и гипоксии на ключевые белки апоптоза и их регуляторы в мозге неонатальных крыс», выполненная под научным руководством доктора биологических наук, член-корреспондента РАН Н.Н. Дыгало, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научно-практическая задача в области физиологии – выяснено влияние глюкокортикоидных гормонов, гипоксии и их сочетанного действия на экспрессию белков апоптозного каскада в отделах мозга неонатальных крысят, что имеет существенное значение для понимания физиологических закономерностей онтогенеза нервной системы у млекопитающих.

Диссертационное исследование В.В. Музыка по актуальности темы, методическому уровню, значимости полученных результатов отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании отдела медико-экологических исследований ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения РАМН « 27» мая 2014 года, протокол № 5.

Заместитель директора ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН  
по научной работе, заведующий отделом  
медико-экологических исследований,  
доктор биологических наук,  
профессор



В.Г. Селятицкая