

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе Серяпиной Алисы Алексеевны на тему «**Метаболические показатели головного мозга и параметры гемодинамики при развитии артериальной гипертензии у крыс линии НИСАГ**», представленную в диссертационный совет Д 001.014.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

### АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Распространенность артериальной гипертензии (АГ) за последние несколько лет выросла с 40 до 44% и прогнозируется дальнейшее увеличение числа людей, страдающих повышенным уровнем артериального давления (АД). Повышенное АД вносит наибольший вклад в смертность от сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с другими факторами риска. Это определяет пристальное внимание к АГ как к заболеванию, значимому с точки зрения общественного здоровья. Основные механизмы регуляции АД достаточно хорошо известны, однако этиология и ранний патогенез первичной АГ полностью не выяснены. Артериальная гипертензия является сложным полигенным заболеванием, обусловленным как генетическими, так и средовыми факторами. Одним из ключевых факторов развития первичной АГ признан психоэмоциональный стресс. При моделировании первичной АГ человека необходимо использовать адекватные модели, в которой наследственная предрасположенность к заболеванию будет проявляться под воздействием провоцирующих средовых факторов. В лаборатории эволюционной генетики Института цитологии и генетики СО РАН была создана оригинальная модель наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензии – линия крыс НИСАГ (ISIAN), у которых генетическая предрасположенность к повышению АД наиболее полно реализуется в условиях эмоционального стресса. Крысы линии НИСАГ, наряду с повышенным АД, имеют отличия от нормотензивной линии WAG как в физиологических, так и в эндокринных показателях. В частности, крысы линии НИСАГ имеют увеличенную массу сердца и почек; гипертрофию левого желудочка и стенок малых артерий, наблюдается изменение активности симпатoadреналовой, гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем.

При стойком повышении АД происходят изменения в функционировании мозговых центров регуляции уровня АД. Эти изменения могут быть как результатом развития гипертензивного состояния, так и создавать, в свою очередь, определённую базу для развития повышенного АД. Протонная магнитно-резонансная спектроскопия,

позволяет исследовать биохимический состав тканей мозга *in vivo*. Причем изменения в содержании определенных биологически активных веществ обнаруживаются еще до появления патологических структурных изменений. Однако, имеющиеся в литературе немногочисленные данные по исследованию метаболитов в структурах мозга касаются, в основном, вторичных гипертензивных состояний и не позволяют сделать какие-либо предположения об их изменении, особенно в динамике развития стресс-чувствительной артериальной гипертензии.

Таким образом, диссертационная работа Серяпиной Алисы Алексеевны, посвященная изучению взаимосвязей метаболических характеристик головного мозга с показателями гемодинамики в процессе онтогенетического становления артериальной гипертензии у крыс линии НИСАГ, является весьма актуальной и оригинальной. Задачи исследования полностью соответствуют заявленной цели, а используемые методы адекватны.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

Научная новизна представленной работы не вызывает сомнения. В работе впервые были применены магнитно-резонансная ангиография для оценки гемодинамики и протонная магнитно-резонансная спектроскопия для оценки уровня метаболитов в различных структурах мозга крыс линии НИСАГ в онтогенезе, что позволило впервые обнаружить корреляционные связи между метаболическими показателями гипоталамуса и гемодинамическими параметрами, сопровождающими развитие АГ. Исследования были проведены одновременно и на крысах нормотензивной линии WAG, которые были использованы в качестве контроля. Впервые было показано, что содержание холина в гипоталамусе имеет положительную корреляцию с систолическим и диастолическим АД, а скорость кровотока в почечных артериях положительно коррелирует с содержанием в гипоталамусе глутамата, и отрицательно – с тормозным медиатором ГАМК.

### **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

Результаты диссертационной работы Серяпиной А.А. важны для понимания механизмов развития артериальной гипертензии. Применение современных неинвазивных методов магнитно-резонансной томографии позволило получить оригинальные данные по гемодинамике и распределению метаболитов в структурах мозга, установить новые закономерности, которые найдут применение в дальнейшей экспериментальной и, возможно, клинической практике.

## **СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И ОБОСНОВАННОСТИ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждены ее высоким научно-методическим уровнем. Работа с животными была выполнена на базе ЦКП «SPF-виварий ИЦиГ СО РАН», отвечающего международным стандартам GMP и GLP. В работе автором применены современный неинвазивный метод регистрации артериального давления у крыс на хвосте с компьютерным анализом данных, современные неинвазивные методы магнитно-резонансной томографии, а именно, магнитно-резонансная ангиография и протонная магнитно-резонансная спектроскопия, которая позволила измерять метаболиты в структурах головного мозга без введения каких-либо контрастных веществ. Работа была проведена на одних и тех же крысах в динамике развития животных в возрасте 1 и 3 месяца, что позволило сократить количество исследованных животных и уменьшить вариации данных. Для сравнительной оценки результатов автор использовала адекватные методы статистического анализа, применяла корреляционный и факторный анализ. Количество использованных животных достаточно для получения статистически значимых результатов.

Все изложенное выше позволяет считать, что представленные Серяпиной А. А. результаты достоверны, а научные положения и выводы, в основу которых были положены полученные результаты, полностью обоснованы.

## **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ**

Представленная диссертация Серяпиной А. А. состоит из классических разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, выводы, список цитируемой литературы. Работа изложена на 95 страницах, содержит 19 рисунков, 10 таблиц, список цитируемой литературы включает 178 источника, из них 52 опубликованы в отечественных изданиях.

Обзор литературы разделен на четыре части. В первой части Обзора автором дается определение понятия «артериальная гипертензия» и ее типы. Указаны основные гемодинамические факторы, определяющие уровень АД. Дается характеристика характерных гемодинамических сдвигов, которые наблюдаются при развитии АГ. Приведены классические концепции этиологии и патогенеза первичной (эссенциальной) артериальной гипертензии. Эта часть Обзора снабжена полезными схемами и иллюстрациями.

Во второй части Обзора дается описание основных механизмов регуляции артериального давления, которые включают симпатoadреналовую и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую системы, указана роль стресса в развитии

гипертензивного статуса. Показано, что центральные звенья регуляции АД представляют собой сложную композицию из взаимосвязанных мозговых структур. Особенная роль отводится гипоталамусу. В аспекте изучения влияния психоэмоционального стресса на повышение АД гипоталамус можно рассматривать как связующее звено между корковыми и периферическими механизмами осуществления обусловленных стрессом реакций сердечно-сосудистой системы.

Так как в процессе деятельности мозговых регуляторных центров происходит изменение метаболизма в соответствующем участке головного мозга, то следующая часть обзора посвящена методам изучения метаболизма головного мозга с помощью магнитно-резонансной спектроскопии. Приведен список метаболитов, которые могут быть обнаружены в структурах мозга, дано описание их физиологической роли, приведены схемы синтеза, транспорта и функций наиболее важных метаболитов в центральной нервной системе. Приведены немногочисленные клинические данные по влиянию гипертензивного статуса на метаболизм головного мозга.

Заключительная часть обзора посвящена экспериментальному моделированию артериальной гипертензии. Автор дает классификация различных форм АГ у крыс по типу моделируемого заболевания, способу моделирования. Дана подробная характеристика крыс НИСАГ с стресс-чувствительной артериальной гипертензией.

В главе «Материалы и методы» дана характеристика экспериментальных животных, подробно объяснены и описаны изучаемые параметры гемодинамики и анализируемые метаболиты. Приведена подробная характеристика используемых методов исследования и аппаратуры: мониторинг АД, магнитно-резонансная ангиография и протонная магнитно-резонансная спектроскопия. Приведено описание методов статистической обработки результатов исследования, которые включали метод однофакторного дисперсионного анализа – one-way ANOVA, post-hoc анализ с применением критерия Фишера, корреляционный анализ по методу Спирмена, факторный анализ с применением метода главных компонент; межлинейные и межвозрастные различия в исследуемых группах животных оценивались с помощью критерия хи-квадрат.

Глава «Результаты исследования» разбита на пять частей. В первой части дана общая характеристика экспериментальных животных. Показано, что по массе тела не наблюдается различий между крысами НИСАГ и WAG ни в возрасте 1 месяца, ни в возрасте 3 месяцев. В тоже время все показатели АД (систолическое, диастолическое и среднее динамическое) были повышены у крыс линии НИСАГ по сравнению с крысами линии WAG как в возрасте 1 месяца, так и по достижении трёхмесячного возраста.

Во второй части приведены результаты по изучению гемодинамических

характеристик линий НИСАГ и WAG в возрасте 1 и 3 месяцев. Исследована объемная скорость кровотока в брюшной аорте, почечной и сонной артериях; приведены результаты однофакторного дисперсионного анализа величины удельной объёмной скорости кровотока, удельного периферического сосудистого сопротивления и значений доли кровотока в бассейнах указанных сосудов. Автор делает заключение, что изменения в интенсивности кровоснабжения в онтогенезе крыс линии НИСАГ отличаются от тех, которые имеют место у нормотензивных крыс WAG. Также показано, что в бассейне сонных артерий крыс НИСАГ, так же, как и в почечных артериях обеих линий, с возрастом величина удельного периферического сосудистого сопротивления снижается, при этом оставаясь повышенной у НИСАГ по отношению к WAG. Полученные данные связаны, скорее всего, с развитием гипертензивного статуса у крыс линии НИСАГ.

Третья часть главы «Результаты исследования» посвящена анализу метаболитов в префронтальной коре головного мозга и гипоталамусе крыс линий НИСАГ и WAG. Автором было исследовано содержание 12 метаболитов, а именно: N-ацетиласпартата, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), аланина, аспартата, холиновых соединений, креатина и фосфокреатина, глутамата и глутамина, мио-инозитола, таурина, глицина, лактата, фосфорилэтаноламина. В префронтальной коре головного мозга достоверных отличий по уровню метаболитов между исследованными линиями крыс не обнаружено. Дисперсионный анализ уровней метаболитов в гипоталамусе крыс НИСАГ и WAG выявил достоверное влияние фактора возраста на содержание ГАМК, а также фактора линии на концентрацию холиновых соединений.

Общий корреляционный анализ, результаты которого приведены в четвертом разделе главы «Результаты исследования», позволил выявить некоторые взаимосвязи между исследуемыми характеристиками гемодинамики и нейрометаболизма. Результаты приведены в виде схем, что значительно облегчает их понимание.

В заключительной части приведены результаты факторного анализа распределения метаболитов по исследованным структурам мозга в динамике развития крыс линий НИСАГ и WAG. Анализ данных позволил выделить два главных фактора, имеющих физиологическое объяснение. Характеристика первой и второй компоненты, отражающих 33,18% дисперсии уровней метаболитов в коре головного мозга и гипоталамусе крыс представлены в виде графиков, что позволяет ясно понять структуру факторов. Факторный анализ показал, что у крыс WAG, в отличие от крыс НИСАГ, наблюдается преобладание энергетической активности и возбуждающих влияний в коре головного мозга, и это различие усиливается с возрастом. У гипертензивных крыс НИСАГ заметно преобладает активность гипоталамуса по сравнению с корой, в то время как у

нормотензивных крыс WAG возбуждающие влияния в гипоталамусе, напротив, ослабевают с возрастом. Такое различие в соотношении возбуждающих и тормозных процессов в гипоталамусе автор диссертации связывает с развитием и поддержанием у крыс линии НИСАГ повышенного нейроэндокринного тонуса, связанного с развитием гипертензивного статуса.

Глава «Обсуждение результатов» написана понятно, позволяет проследить всю логику исследования, связь с работами, выполненными в мире и в лаборатории.

Автором сформулированы 5 выводов, которые логично и аргументировано вытекают из анализа результатов выполненного научного исследования.

Материалы диссертационного исследования были представлены и обсуждены на российских и международных конференциях. По результатам диссертации опубликованы 8 работ, включая 4 научные статьи в рецензируемых российских и международных журналах, входящих в список журналов, рекомендованных ВАК, а также в международные базы данных Web of Science и Scopus. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Принципиальных замечаний по содержанию работы нет. Однако есть мелкие замечания:

1. Несколько замечаний редакционного характера: на рис. 3.8 не дано обозначение столбов; встречаются пропуски букв в словах (стр.54, 57).
2. При анализе данных по объемной скорости кровотока было получено, что доля кровотока, приходящаяся на брюшную аорту, снижается у крыс обеих линий с возрастом, а также понижена у нормотензивных крыс WAG по сравнению с гипертензивными крысами линии НИСАГ. В почечных и сонных артериях наблюдается противоположная зависимость – с возрастом доля кровотока в них увеличивается у животных обеих линий, и в каждом возрасте это увеличение больше у WAG по сравнению с НИСАГ. Автор делает заключение, что с возрастом у крыс обеих линий происходит перераспределение доли кровотока в пользу почечных и сонных артерий. Однако, если внимательно изучить рис. 3.1 и 3.2 видно, что скорость кровотока в брюшной аорте у трех месячных крыс линии НИСАГ почти в два раза выше, чем в почечной и сонной артериях, а у крыс линии WAG эти показатели находятся примерно на одном уровне.
3. При анализе метаболических изменений в гипоталамусе крыс линий НИСАГ и WAG в возрасте 1 и 3 месяц автор пишет, что дисперсионный анализ уровней метаболитов в гипоталамусе крыс НИСАГ и WAG выявил достоверное влияние фактора возраста на содержание ГАМК и фосфорилэтаноламина, а также фактора линии на концентрацию холиновых соединений (табл.3.7). Однако данные, приведенные в таблице 3.7. не

показывают достоверных отличий для фосфорилэтаноламина.

Указанные замечания не повлияли на общее хорошее впечатление о данной работе.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Серяпиной А. А. является законченной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком методическом уровне. Полученные результаты являются новыми и оригинальными. Выводы хорошо обоснованы и соответствуют поставленным в работе задачам. Автореферат логично отражает основное содержание диссертации. Материал диссертации соответствует указанной специальности.

Таким образом, диссертация Серяпиной Алисы Алексеевны «Метаболические показатели головного мозга и параметры гемодинамики при развитии артериальной гипертензии у крыс линии НИСАГ» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки РФ (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней» предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

#### Официальный оппонент

Доктор биологических наук,

Заведующая лабораторией Лазерной биофизики

ФГБУН Институт лазерной физики СО РАН



**О. П. Черкасова**

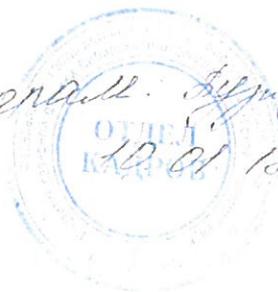
630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева 15Б, Институт лазерной физики СО РАН,

e-mail: o.p.cherkasova@gmail.com, телефон: 8(965)823-11-92.

« 10 » января 2018 г.



*М.М. Моисеев*



*Заведующий лабораторией Лазерной биофизики  
ФГБУН Институт лазерной физики СО РАН  
10.01.18г.*