ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии Межведомственного диссертационного совета Д.03.16.533 при Институте горной физиологии НАН КР, МВШМ Международного Университета Кыргызстана и Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева по диссертации Холбегова Мирзохамдама Ёрбековича на тему: «Сравнительно-физиологические исследования механизмов высшей нервной деятельности у позвоночных животных в различных физиологических состояниях и роль нейропептида дермормина в их регуляции», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01-биология.

Комиссия в составе - д.м.н., профессор Мурзахметова М. К. – председатель и члены комиссии - д.б.н., профессор Вишневский А.А., д.б.н., Каркобатов Х.Ж.

рассмотрев представленную соискателем Холбеговым М.Э диссертационную работу на тему «Сравнительно-физиологические исследования механизмов высшей нервной деятельности у позвоночных животных в различных физиологических состояниях и роль нейропептида дермормина в их регуляции» сделала следующее заключение:

1. СООТВЕТСТВИЕ РАБОТЫ СПЕЦИАЛЬНОСТИ, ПО КОТОРОЙ ДАНО ПРАВО ДИССЕРТАЦИОННОМУ СОВЕТУ ПРИНИМАТЬ ДИССЕРТАЦИЮ К ЗАЩИТЕ.

Представленная Холбеговым М.Э докторская диссертация соответствует профилю диссертационного совета. В работе на представителях рептилий (желтопузики, степная черепаха) и насекомоядных (ушастый еж) в экспериментальных условиях проведена сравнительно-физиологическая оценка изменений условнорефлекторной и поведенческой деятельности при различных физиологических состояниях, а также изучено влияние нейропептида дермормина и его конъюгата в регуляции этих процессов у вышеуказанных животных.

Диссертационное исследование в полной мере соответствует паспорту специальности 03.03.01 - биология.

Цель диссертационной работы: выявить особенности изменения процессов высшей нервной деятельности при различных физиологических состояниях у позвоночных животных различной экологической специализации и филогенетического происхождения, оценить роль гиппокампа в механизмах их терпидности и определить влияние опиоидных нейропептида дермормина и его конъюгата в регуляции процессов ВНД в период впадения животных в эстивацию и гианобиоз.

Поставленная цель достигнута путем решения следующих задач:
1. Изучить характер изменения врожденных и приобретенных форм условнорефлекторной деятельности у представителей рептилий (ящерица-желтопузик, степная черепаха) и насекомоядных (ушастый еж) в активный период жизнедеятельности.
2. Исследовать механизмы образования условных реакций и изменение вегетативных показателей у рептилий и насекомоядных в периоды впадения в эстивацию и гианобиоз.
3. Выявить особенности изменения условнорефлекторных реакций и дифференцировочного торможения у рептилий и насекомоядных в период пробуждения из летней и зимней спячки.
4. Выяснить участие специфических структур мозга - гиппокампа - в механизмах топливности позвоночных.
5. Определить влияние нейропептида дермографина на подвижность нервных процессов и поведение животных (желтопер, черепаха, ех) и изменение параметров вегетативной нервной системы в периоды впадения в экстазию и гипобиоз.
6. Оценить влияние дермографина на функциональную способность мозга рептилий и насекомоядных и возможности сохранения ранее выработанной биологически полезной информации у летне- и зимоспящих животных в период естественного пробуждения.
7. Исследовать эффекты конъюгата дермографина на сложные двигательные и пищевые рефлексы и поведение представителей рептилий и насекомоядных в активный период жизнедеятельности.
8. Провести сравнительную оценку особенностей изменений процессов ВНД, поведенческой деятельности и вегетативных показателей у летне- и зимоспящих животных при различных физиологических состояниях.

Эксперименты выполнены на двух представителях рептилий - безногих ящерицах - желтоперых (Pseudopus apodus P.- 60 особей) и степных черепахах (Agryonemis horsfieldi Gr.- 60 особей) и одном представителе млекопитающих - ушастый ех (Hemiechinus auritus - 60 особей), которые обитают в условиях Таджикистана. Животные содержались в лабораторных условиях, максимально приближенных к естественным. Эксперименты выполнялись: в активный период жизнедеятельности (1-серия), в период экстазии (2-серия), в период гипобиоза (3-серия), после естественного пробуждения из гипобиоза (4-серия). В каждой серии опытов было использовано 10 животных.

При исследовании процессов ВНД у ящериц - желтоперых и черепах использовалась методика пищедвигательных условных рефлексов, разработанная академиком РТ Х.М.Сафаровым (1974). Эксперименты по изучению врожденных и приобретённых форм нервной деятельности проводились в фанерной камере - манеже размером 150x180x90 см. В качестве условного положительного раздражителя использовалась «правая лампочка» напряжением 25 Вт, в качестве отрицательного (дифференцировочного) условного раздражителя - «левая лампочка» с таким же напряжением. Безусловными раздражителями для желтоперых служили кусочки сырого мяса или вареного яйца. Для черепах - листья капусты и подорожника, а также луцерна. Время изолированного действия условия раздражителем в каждом опыте составляло 15-30 сек; ежедневно предъявлялось по 6-10 сочетаний с интервалом 3-5 минут в каждом эксперименте. Положительный условный рефлекс считался выработанным, если правильный ответ стабилизировался и укреплялся при 80-90 % -ном выполнении. Дифференцировочное торможение считалось выработанным, если животные в ответ на неподкрепляемый стимул оставались в стартовом отсеке. Наряду с выработкой положительных и отрицательных условных рефлексов учитывались
величина латентного периода, время подхода к кормушке, время возвращения в
стартовый отsek и адекватность ответов на условные раздражители.
Опыты по изучению врожденных форм поведения у ушастых ежей проводились по методике пищедобывательных условных инструментальных
рефлексов, в специально сконструированной камере размером 80х50х40 см из
плексигласа (Устоев, 1994).
После упражнения пищедобывательных условных рефлексов на световые
стимулы и достижения ими 90-100%-го критерия выполнения вырабатывалось
dифференцировочное торможение. На сигнал левой лампочки животное должно
было оставаться в стартовом отсеке. Тестировалась и поведенческая деятельность
по общей двигательной активности, пищевому и зоосоциальному поведению.
В следующем цикле исследований исследовалось влияние нейропептида
derморфина (5-серия) и его конъюгата (6 серия) на образование и укрепление
положительных и отрицательных условных рефлексов и общедвигательные
поведенческие реакции в период предшествующий внедрению подопытных
животных в эстивацию (5.2-серия) и гипобиоз (5.3 – серия), а также после их
естественного пробуждения (5.4-серия). Контролем служили животные активного
периода (5.1 – серия). Препарат дорморфин фирмы "Serva" в физиологическом
растворе вводился животным всех пар в течение 10 мин до опытов. Конъюгат дорморфина фирмы "Serva" в
физиологическом растворе вводился также всем животным, но в дозе 2-3 мкг/кг
за 10 мин до опытов. Эффективность препаратов в серии вышеуказанных опытов
В 7 и 8 сериях экспериментов у контрольных и
гиппокампэктомированных животных (по 10 особей желтогузиков, черепах и
ежей) изучалась роль гиппокампа в механизмах торможения в активный период
жизнедеятельности.
Для этого проводилась наркозизация с помощью раствора нембутала в дозе
40 мг/кг и транквилизатора хлордиазепоксина в дозе 20-30 мг/кг, вводимых
внутрибрюшинно. Животных фиксировали в стереотаксическом приборе
Мешерского, производили трепанацию черепа над областью переднего мозга и
удаляли твердую и мягую мозговую оболочку. Затем электролитически, через
стальные биполярные электроды (М. Б. Устоев, 1983) путем электроомографии
разрушали гиппокампы.
Во всех сериях опытов изучалось изменение вегетативных показателей
(частоты сердечных сокращений, частоты дыхания), которые регистрировались с
помощью ЭКГ и пневмометрии. Масса тела измерялась на весах типа ВТЦ,
ректальная температура- с помощью электротермометра типа ТПЭМ-1.

2. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ДИССЕРТАЦИИ:
Одним из важнейших направлений в современной нейробиологии
продолжают оставаться исследования физиологии гипобиоза и эстивации,
являющиеся эволюционно продвинутой экологической адаптацией некоторых
позвоночных для преодоления неблагоприятных природных факторов окружаю-
щей среды.
К настоящему времени получены убедительные данные по изменению
мorfологических и функциональных особенностей у зимующих и летнесящих
животных. Так в период гипобиоза домелопитящих и зимней спячки

Другим, не менее важным направлением исследований сложных форм физиологических адаптаций различных представителей летне- и зимоспящих животных, является нейропептидная регуляция процессов ВНД и поведенческой деятельности (Соллертинская, 2007 – 2014; Левонян и др., 2009; Устовой, Чоринет, 2012; Войнов И.М., 2016; Berger, 2005; Ewart, 2009; Zinn Mark, 2014 и др.). Наименее изученным из опиоидных пептидов в этом плане является дермомин. Однако, роль этого нейропептида и его конъюгата в регуляции высших нервных функций у летне- и зимоспящих животных изучена недостаточно, а в сравнительно-физиологическом аспекте такие работы вообще отсутствуют. В связи с этим, актуальность диссертационной работы не вызывает сомнения и представляет научный интерес как с теоретической, так и с практической точки зрения.

3. НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ:

В работе представлены следующие новые научно-обоснованные теоретические результаты, совокупность которых имеет немаловажное значение для развития физиологических наук.

Результат 1.

Период впадения в спячку у рептилий кратковременный (в течение 2-3 суток), все формы условных и безусловных рефлексов и дифференцировочное торможение подавлены. В состоянии эстакации проявляются признаки невротического состояния, пространственная дезориентация, и сонливость (Глава 3, подраздел 3.1; 3.2.).

Результат 2.

Вхождению в зимнюю спячку насекомоядных предшествует продолжительный предромбальный период с включением механизмов примитивного торможения и снижения температуры тела. В эти сроки изменяются все формы поведенческой деятельности и подавляются функции дыхания и кровообращения, т. е. осуществляется переход организма на другой режим функционирования - адаптивной пойкilotермии (Глава 3, подраздел 3.3).

Результат 3.

После естественного пробуждения из гипобиоза у рептилий и насекомоядных условные пищеводные и пищеводно-желудочные рефлексы, выработанные в активном периоде жизнедеятельности восстанавливаются и стабилизируются значительно быстрее в сравнении с необученными животными. ( Глава 3, подраздел 3.2).
Результат 4.
Двустворочное разрушение гиппокампа у рептилий оказывает незначительное влияние на все формы условно-рефлекторной деятельности в активном периоде жизнедеятельности, тогда как у насекомоядных (сжи) происходит нарушение устойчивости тормозных процессов, удлиняющих время вхождения в спячку (Глава 4, подраздел 4.1; 4.2; 4.3).

Результат 5.
Введение дерьморфина в дозе (0,5-1 мг/кг) рептилям приводит в период эстивации к значительным поведенческим нарушениям, ухудшению условно-рефлекторной деятельности, подавлению тактильной чувствительности, появлению соноподобного состояния, а затем ускоренному впадению в гипобиоз. (Глава 5, подраздел 5.1; 5.2).

Результат 6.
Введение дерьморфина в дозе (0,5-1 мг/кг) насекомоядным в период гипобиоза сопровождается угнетением условно-рефлекторной деятельности, падением температуры тела, изменением сердечного и дыхательного ритмов и появлением соноподобного состояния. (Глава 5 подраздел 5.3).

Результат 7.
Конькогат дерьморфина обладает специфическим действием на процессы летней и зимней спячек, повышает двигательную активность животных, смещает цикл «сон-бодрствования» в сторону бодрящего состояния. (Глава 6, подраздел 6.1; 6.2; 6.3).

4. СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ И ДОСТОВЕРНОСТИ КАЖДОГО РЕЗУЛЬТАТА (НАУЧНОГО ПОЛОЖЕНИЯ), ВЫВОДОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЯ СОИСКАТЕЛЯ, СФОРМИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ.
Для достижения поставленной в диссертации цели и решения задач соискателем были проанализированы данные современной литературы по изучаемой проблеме, использованы современные методы исследований и способы обработки полученных материалов и проведён статистический анализ цифровых данных, поэтому все основные научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, научно обоснованы и достоверны.

Результат 1.
Обоснован аналитической оценкой литературных источников по изучаемой проблеме, длительными наблюдениями за поведением экспериментальных животных, установлением факта невротизации у представителей рептилий при эстивации, а также и достоверностью результатов, основанных на современной статистической обработке материала, и применением критерия Стьюдента.

Результат 2.
Результат обоснован постановочными экспериментами как в природных, так и в специально созданных условиях вивария, подобравшим в нем тепловым режимом для насекомоядных, а также регистрацией показателей, характеризующих процессы теплообразования и изменение показателей ВНС.

Результат 3.
Результат обоснован сравнительной оценкой изменения пищедвигательных и пищедобывающих рефлексов в период пробуждения из спячки и их достоверным различием с данными, полученными у животных в период активной жизнедеятельности.
Результат 4.
Результат обоснован сложнейшим оперативным вмешательством в мозговые структуры подопытных животных и контролем за их восстановлением в период выполнение экспериментов по изучение подвижности и устойчивости нервных процессов; полученные данные подтверждены статистическим анализом с использованием критерия Стьюдента.

Результат 5.
Результат обоснован тщательным анализом литературных данных по вопросам нейропептидной регуляции, выбором опиатного нейропептида для оценки его влияние на условнорефлекторную и поведенческую деятельность, адекватным подбором методических приёмов для установления факта функциональных изменений под воздействием препарата.

Результат 6.
Результат обоснован непрерывным мониторингом за состоянием животных, периодической регистрацией показателей сердечных и дыхательных компонентов, фиксацией температуры тела и определением параметров условно-рефлекторной деятельности, а также статистически достоверным различием между подопытными и контрольными животными.

Результат 7.
Результат обоснован данными изменения процессов «сон-бодрствования» при иммунизации коньогатом дерморфина зимоспящих позвоночных животных при гипобиозе, а также активизацией поведенческих реакций в течение прондомального периода.

5. СТЕПЕНЬ НОВИЗНЫ КАЖДОГО НАУЧНОГО РЕЗУЛЬТАТА (ПОЛОЖЕНИЯ), ВЫВОДОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЯ СОИСКАТЕЛЯ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Результат 1.
Является новым, поскольку впервые проведена углубленная сравнительно-физиологическая оценка и анализ изменений условнорефлекторной и поведенческой деятельности у представителей лете- и зимоспящих позвоночных животных при различных физиологических состояниях, при этом процесс внедрения в гипобиоз у рептилий кратковременный с явлениями невротического состояния, у участого ежа -пролонгированный.

Результат 2.
Частично новый, так как подтверждено, что процессу зимней спячки насекомоядных предшествует прондомальный период; новым является то, что в эти сроки отчетливо проявляются процессы растормаживания дифференцировки и парадоксальные реакции, однако условно-положительные реакции до 52 % -ного критерия выполнения сохраняется.

Результат 3.
Результат является новым, поскольку факт более быстрого образования положительных пищедвигательных и пищедобывательных условных рефлексов у обученных животных после естественного пробуждения в сравнении с необученными доказывается впервые.

Результат 4.
Результаты влияния двухсторонней гиппокампэктомии у рептилий и у насекомоядных (ежи) на условно-рефлекторную деятельность приоритетны и они
показывают, что у сжь е здания нарушение устойчивости тормозных процессов.

Результат 5.
Результат частично новый, так как в отечественной и зарубежной литературе имеются данные об отрицательных эффектах димерфина на врожденные и приобретенные формы нервной деятельности.

Результат 6.
Результаты по влиянию димерфина на показатели ВНС и условно-рефлекторной деятельности у насекомых являются частично новыми. Однако, отсроченные эффекты соподобного состояния, сохраняющиеся в течение более 2-х недель после введения препарата фиксируются впервые.

Результат 7.
Результаты новые, отражающие у насекомых (сжь), повышение двигательной активности, устойчивое образование положительных рефлексов на условные раздражители и временную задержку при впадении в зимнюю спячку

6. ОЦЕНКА ВНУТРЕННЕГО ЕДИСТВА И НАПРАВЛЕННОСТИ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ НА РЕШЕНИЕ СООТВЕТСТВУЮЩЕЙ АКТУАЛЬНОЙ ПРОБЛЕМЫ, ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ПРИКЛАДНОЙ ЗАДАЧИ.
Диссертационная работа Холбегова М.Е. на тему «Сравнительно-физиологические исследования механизмов высшей нервной деятельности у позвоночных животных в различных физиологических состояниях и роль нейропептида димерфина в их регуляции» представляет собой комплексное исследование и характеризуется внутренним единством. Направлена на решение актуальной теоретических и прикладных задач, связанных с изучением процессов условно-рефлекторной и поведенческой деятельности у позвоночных животных о определении влияния опиатных нейропептидов на адаптивные функции мозга при различных физиологических состояниях.

Полученные результаты взаимосвязаны, практические рекомендации лаконичны и построены на выверенных теоретических положениях. Диссертация содержит новые научные результаты, что является свидетельством вклада автора в физиологическую науку.

7. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.
Результаты диссертационной работы относятся к числу фундаментальных исследований и имеют важное теоретическое значение для понимания филогенетических особенностей высшей нервной деятельности при различных физиологических состояниях у разных представителей летних и зимующих позвоночных животных. И они существенным образом восполняют пробелы в области адаптивных возможностей функций мозга в процессе эстивации и гипобиоза.

Полученные материалы по иммунизации конъюгатом димерфина приоритетны и способствуют оптимизации функционального состояния организма. Наряду с данными по нейропептиду и димерфину они открывают широкие перспективы для практического применения нейропептида димерфина с целью сохранения жизнеобеспечивающих функций при моделировании искусственного гипобиоза.
Результаты исследования внедрены в общий курс лекций по экологии, физиологии, биохимии человека и животных, а также в спецкурсы по физиологии и патологии высшей нервной деятельности, нейробиологии, экологической физиологии и нейрохимии в ВУЗах медико-биологического и экологического профиля Республики Таджикистан.

8. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ОПУБЛИКОВАНИЯ ОСНОВНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДОВ ДИССЕРТАЦИИ.

Содержание диссертации отражено в следующих работах автора:

1) монографии:

2) статьи в периодических изданиях:


9. СООТВЕТСТВИЕ АВТОРЕФЕРАТА СОДЕРЖАНИЮ ДИССЕРТАЦИИ, Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, а также поставленным целям и задачам исследования. Автореферат имеет соответствующие резюме на кыргызском, русском и английском языках.

10. ОБОСНОВАННОСТЬ ПРЕДЛОЖЕНИЯ О НАЗНАЧЕНИИ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ, ОФИЦИАЛЬНЫХ ОППОНЕНТОВ
Комиссия диссертационного совета по докторской диссертации Холбегова М.Е предлагает назначить в качестве ведущей организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН).

- первым официальным оппонентом доктора биологических наук, профессора Вишневского А.А., специальность по автореферату «03.03.01», который имеет труды близкие к проблеме исследования:
  2. Вишневский А.А., Жапаралиева Ч.О., Мухамедова И.П., Изменения мембран эритроцитов и некоторых морфофункциональных особенностей головного мозга в условиях гипоксической гипоксии в группах крыс с различной устойчивостью к гипоксии // Ульяновский медико-биологический журнал.- 2012. - №1.- С. 57-63.

- вторым официальным оппонентом доктора медицинских наук, профессора Соколова А.Д., специальность по автореферату «03.03.01», который имеет труды близкие к проблеме исследования:

- третьим официальным оппонентом доктора биологических наук, доцента Жумадину Ш.М., специальность по автореферату «03.03.01», которая имеет труды близкие к проблеме исследования:


Экспертная комиссия, рассмотрев представленные документы и диссертационную работу Холбетова М. Е на тему: «Сравнительно-физиологические исследования механизмов нервной деятельности у позвоночных животных в различных физиологических состояниях и роль нейропептида дермифина в их регуляции», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук, рекомендует диссертационному совету Д.03.16.533 при Институте горной физиологии НАН КР, МВШМ Международном Университете Кыргызстана и Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева к защите по специальности 03.03.01-физиология.

Председатель экспертной комиссии
доктор биологических наук,
профессор

Мурзахметова М.К.

Члены комиссии:

доктор биологических наук,
профессор

Вишневский А.А

доктор биологических наук

Каркобатов Х.Дж

Ученый секретарь диссертационного совета