

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Ягловой Натальи Валентиновны на диссертацию Козина Станислава Владимировича «Влияние изотопного D/H обмена на ткани головного мозга крыс при действии стрессовых факторов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – «Биофизика»

Актуальность темы исследования

Актуальность темы исследования обусловлена высоким уровнем сердечно-сосудистых заболеваний, следствием которых является гипоксия мозга. Эти заболевания вносят значительный вклад как в структуру смертности, так и инвалидизации населения. Поиск новых методов предупреждения развития и коррекции гипоксических расстройств и при острых нарушениях мозгового кровообращения, и при состояниях, сопровождающихся длительным снижением оксигенации, проведении длительной общей анестезии, коррекции последствий действия ряда производственных факторов на организм – это активно развивающееся мультидисциплинарное направление. Поэтому актуальность темы и цели диссертационного исследования Станислава Владимировича Козина – изучить антигипоксический эффект и механизм его реализации, вызванный искусственным изменением изотопного D/H состава в организме лабораторных животных, не вызывает сомнения.

Достоверность, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Автором выполнены исследования на достаточном по объему материале. Экспериментальная часть работы включала проведение экспериментов на 150 лабораторных животных (крысах Вистар) и первичных культурах нейронов крыс. Для достижения цели автором был поставлен ряд

задач, для решения которых были использованы современные методы адекватные поставленным задачам. Представленные автором выводы основаны на полученных данных и логически вытекают из них.

Все представленные в диссертации данные опубликованы. Всего автором сделано 14 публикаций, из которых 8 – статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Результаты доложены на международных и всероссийских конференциях.

Новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Автором впервые показано, что снижение концентрации дейтерия в головном мозге оказывает антигипоксический эффект. Установлено, что продолжительное предварительное применение воды с пониженным содержанием дейтерия в течение шести недель уменьшает развитие окислительного стресса и нормализует работу ферментов антиоксидантной защиты в тканях головного мозга после острой гипоксии.

Выявлено, что уменьшение концентрации дейтерия в крови и тканях головного мозга на фоне продолжительного применения воды с пониженным содержанием дейтерия, уменьшает уровень тревожности у крыс, подвергшихся острой гипоксии.

Автором получены новые данные об отсутствии цитопротекторного эффекта понижения содержания дейтерия в клетках при глюкозной депривации и температурном стрессе в экспериментах *in vitro*.

Автором установлено, что снижение содержания дейтерия влияет на скорость ферментативных реакций, в частности, катализируемых пероксидазой хрена.

Научно-практическая значимость полученных данных

Диссертация Козина С.В. является фундаментальным исследованием, которое вносит вклад в решение ряда актуальных задач биофизики, биохимии, фармакологии, клеточной биологии. Полученные данные о воздействии

низких концентраций дейтерия на интенсивность окислительных процессов и антиоксидантный статус тканей головного мозга крыс, а также на когнитивные функции животных в условиях гипоксии при продолжительном приеме воды с пониженным содержанием дейтерия указывают на возможность дальнейших исследований модификации изотопного состава среды организма для повышения его резистентности.

Автором получен патент «Способ профилактики и коррекции метаболических и функциональных нарушений центральной нервной системы в условиях стресса».

Общая характеристика и оценка содержания работы

Диссертация представлена на 133 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, главы «Объект и метод исследования», главы «Результаты собственных исследований», заключения, выводов и списка литературы, включающего 257 источников (85 отечественных и 172 зарубежных). Иллюстративный материал включает 17 рисунков и 6 таблиц. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

В введении автором обоснована актуальность выбранной темы исследования, сформулированы цели и задачи исследования.

Обзор литературы состоит из трех частей. В первой части обзора описываются биологические эффекты низких концентраций на организм и ткани млекопитающих. В следующем разделе обзора описываются механизмы развития стрессовой реакции в организме млекопитающих, а также подробно обсуждается работа стресс – лимитирующих систем организма. Достаточно подробно рассматривается работа антиоксидантной системы, как одного из звеньев стресс-лимитирующей системы. В последнем разделе обзора литературы рассматриваются патофизиологические процессы, возникающие в тканях головного мозга на фоне гипоксии.

Раздел «Объекты и методы исследования» описан детально, что позволяет при возможности воспроизвести эксперименте, проведенные автором. В работе в основном используются классические биохимические и поведенческие методы, также есть современные методы, проводимые на культуре нервной ткани, а также используются современные аналитические методы для определения концентрации дейтерия в сыворотке и тканях организма. Используются методы изучения структуры белков и активности ферментов. Диссертант рассматривает влияние низких концентраций дейтерия на организменном, тканевом и молекулярном уровне в экспериментах *in vivo*, *in vitro* и на модельных системах.

В главе «Результаты собственных исследований» автор последовательно излагает полученные данные об исследовании концентраций дейтерия и влиянии этих изменений на окислительные процессы в тканях головного мозга, на тревожность и выработку условно-рефлекторной реакции у крыс. Следующий раздел главы – это результаты исследований, проведенных на культурах нейронов мозжечка. Автор приводит результаты влияния D/H – обмена на уровень активных форм кислорода и Ca^{2+} , величины мембранного потенциала митохондрий нейронов мозжечка, а также выживаемость нейронов мозжечка при глюкозной депривации и температурном стрессе.

Далее автор приводит результаты изменения электрофизиологических показателей срезов гиппокампа. Последние два подраздела главы «Результаты собственных исследований» посвящены влиянию среды с низким содержанием дейтерия на активность пероксидазы хрена в модельных системах и изучению структуры пероксидазы хрена и бычьего сывороточного альбумина в среде с пониженным содержанием дейтерия.

Завершают работу заключение и выводы.

По данному диссертационному исследованию имеется ряд замечаний.

1. Задачи исследования очень разнородны, что не позволяет объединять их результаты в общую картину. Если автор ставил целью провести исследование на молекулярном, клеточном и организменном уровне, то ему следовало бы

продумать и подобрать те параметры, которые могли быть прослежены на всех трех уровнях и логично дополняли друг друга, и объясняли механизмы наблюдаемых изменений.

2. Исследование носит слишком мультидисциплинарный характер. Некоторые задачи исследования (1,2,3) не соответствуют паспорту специальности 1.5.2 – биофизика и относятся к специальностям 1.5.4 – биохимия, 1.5.5 – физиология человека и животных, 1.5.22 – клеточная биология.

3. При ознакомлении с текстом диссертации обращает на себя внимание отсутствие традиционных глав и подразделов. Так, в введении нет подраздела «Степень разработанности проблемы», «Методология и методы исследования», «Личный вклад автора».

4. В конце главы «Обзор литературы» нет заключения, в котором автор должен был обосновывать цель исследования.

5. В главе «Объекты и методы исследования» отсутствуют сведения о нормативно-правовой базе при проведении экспериментов на животных, нет заключения этической комиссии. Существенным недостатком является отсутствие раздела «Статистическая обработка данных», который во-многом определяет правильность и достоверность полученных результатов.

6. В главе «Результаты полученных исследований» ряд иллюстраций (рис. 1, 3), не содержит сведений о изображенных на них средних тенденциях и параметрах рассеяния признаков.

7. В исследованиях по изучению тревожности крыс представлены результаты, в которых рассеяния признаков превышают средние арифметические значения, что указывает, во-первых, на непараметрический характер распределения, а, следовательно, и неправильно примененные автором методы статистической обработки данных. Во-вторых, данные подобного рода являются не количественными, а порядковыми, и должны быть представлены в виде медианы. Существенным недостатком этого эксперимента является то, что автором не был произведен анализ уровня

тревожности до начала воздействия на крыс воды с пониженным содержанием дейтерия и разделение крыс на подгруппы по уровню тревожности. Это дало бы научно обоснованные результаты, поскольку судить о снижении уровня тревожности можно только у животных с изначально более высоким уровнем тревожности.

8. Исследование по задаче 6 «Изучить кинетико-термодинамические параметры ферментативной реакции в среде с модифицированным изотопным составом; оценить влияния среды с низкой концентрацией на структуру белков» не соответствует цели исследования «Изучить антигипоксический эффект и механизм его реализации, вызванный искусственным изменением изотопного D/H состава в организме лабораторных животных».

9. Недостатком данной работы является отсутствие полноценной главы «Обсуждение полученных результатов». Эта глава является важнейшим квалификационным показателем работы. В ней автор должен сложить воедино все полученные им данные и сопоставить с имеющимися в научной литературе сведениями, и на этой основе сформулировать конкретный вклад его работы в решение выбранной им научной проблемы. Вместо этого автор кратко обсудил каждый результат с соответствующем подразделе главы «Результаты» и сделал заключение без обсуждения совокупности полученных им данных. В конце заключения автор представил схему возможного механизма влияния низких концентраций дейтерия, вызванный D/H- обменом в тканях и крови животных, которая не включает в себя все результаты, а главное не соответствует поставленной в диссертации цели – изучить антигипоксический эффект и механизмы его реализации.

10. Отсутствие серьезного аналитического подхода сказывается и на качестве выводов, часть которых (выводы № 4, 5, 6) носит декларативный характер и в краткой форме излагает результаты исследований. То же самое можно сказать и о положениях, выносимых на защиту. Их много, и они носят не концептуальный характер, то есть не являются положениями, раскрывающими решение поставленной цели.

В связи с этим, возникает ряд вопросов:

Почему был выбран такой набор задач?

Для чего в диссертацию были включены исследования, не соответствующие теме диссертации?

Почему, проводя столь разнообразные исследования на животных и культурах клеток автор ни в одном эксперименте не изучал изменения ключевого медиатора адаптации к гипоксии – белка HIF, который должен был по идее стать основным объектом исследования?

Вместе с тем нельзя не отметить, что автором получены интересные фундаментальные данные, которые могут лечь в основу дальнейших исследований биофизических, биохимических, физиологических изменений, происходящих при понижении содержания дейтерия, на различных структурных уровнях организации живой материи. Автором убедительно продемонстрирован антигипоксический эффект понижения содержания дейтерия в организме и повышения адаптационного потенциала организма, что имеет большое научно-практическое значение.

Заключение

Диссертационная работа Станислава Владимировича Козина «Влияние изотопного D/H обмена на ткани головного мозга крыс при действии стрессовых факторов» является научно-квалификационной работой и представляет собой самостоятельное завершённое научное исследование, посвящённое решению актуальной научной задачи, а именно изучению антигипоксического эффекта и механизмов его реализации, вызванного искусственным изменением изотопного D/H состава в организме лабораторных животных.

Результаты имеют важное научно-практическое и теоретическое значение для биофизики, биохимии, клеточной биологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Станислава Владимировича

Козина соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией развития эндокринной системы
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына»

доктор медицинских наук по специальностям
1.5.22 – клеточная биология, 1.5.4 – биохимия

Адрес: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

Телефон: 8(499)120-80-65

e-mail: yaglova@mail.ru

Сайт организации: morfolhum@mail.ru

Подпись Ягловой Н.В. заверяю.

Начальник отдела кадров ФГБНУ НИИМЧ

им. ак. А.П. Авцына

Н.В. Яглова

28 марта 2022г.



М.С. Кравченко