

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Богачевой Елены Васильевны «Влияние электромагнитных полей метрового диапазона длин волн на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмен в изолированном сердце крысы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика»

Изучение физико-химических основ развития и коррекции стрессовых и патологических процессов, а так же исследование механизмов действия факторов различной природы на гомеостаз биологических объектов является важной мультидисциплинарной научной проблемой. Электромагнитные поля радиочастотного диапазона, так же могут рассматриваться, как стрессирующее воздействие. В настоящее время накоплено большое количество знаний о взаимодействии электромагнитных полей радиочастотного диапазона с биологическими объектами, влиянии на различные биологические функции и реакции. Диссертационная работа Е.В. Богачевой, посвященная изучению влияния электромагнитных полей метрового диапазона длин волн на процессы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена в миокарде сердца крысы, является еще одним вкладом в эту копилку.

Научная новизна ряда результатов полученных диссертантом не вызывает сомнений. Новые знания о процессах, происходящих в живых объектах под действием электромагнитных полей, полученные диссертантом обоснованы. Можно полагать, что ряд результатов, полученных диссертантом, окажутся полезными при экспериментальном обосновании, а также разработке нормативных документов, определяющих электромагнитную безопасность.

Диссертация написана по традиционной схеме. Состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, самих результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы и благодарственного листа. Список цитируемой литературы включает 177 ссылок.

В обзоре литературы, состоящем из шести подглав, представлены сведения, непосредственно касающиеся предмета изучения. Сразу же должен написать, что литературный обзор читать интересно, хотя я был не со всем согласен, а форма изложения материала порой кажется излишне упрощенной. В первой подглаве изложена общая характеристика радиочастотных электромагнитных полей. Глава начинается со школьной формулы отражающей связь частоты, длины и скорости распространения волны. Также в этой подглаве изложена информация о векторах, которые определяют направления переноса энергии электромагнитной волной. Приведена классификация участка электромагнитного спектра. В следующей подглаве изложены основные биофизические механизмы действия электромагнитных полей радиочастотного диапазона. На мой взгляд, подглава написана довольно ярко и интересно. Отдельная подглава посвящена методам численной дозиметрии электромагнитных полей радиочастотного диапазона.

Автором отмечается, что общий принцип теоретической дозиметрии состоит в численном решении уравнений Максвелла. Кроме описания истории развития этого направления, диссертант уделяет внимание практической стороне вопроса, например, рассматривает возможности видеокарт для выполнения параллельных вычислений. Четвертая подглава касается молекулярной организации, биологической роли и регуляции Ca^{2+} в сердце. Формулировка не удачная, но в целом можно понять. Внутри подглавы содержится довольно общая информация о роли катионов кальция в организме и их функциональной связи с активными формами кислорода. Пятая подглава названа: «Особенности влияния радиочастотных электромагнитных полей на состояние и транспорт ионов Ca^{2+} в клетках», в ней изложена суть четырех экспериментальных работ по теме, проведен анализ состояния. В последней подглаве обзора литературы рассказано о влиянии электромагнитных полей на процессы перекисного окисления липидов. Собрана небольшая подборка литературы по влиянию сотовой связи на редокс гомеостаз. Все представленные работы посвящены прооксидантному действию GSM. Работы, в которых показано отсутствие негативного действия GSM излучения, не приведены.

В целом обзор литературы написан интересно и информативно, но в нем есть две проблемы. *Первая, приводятся только те данные, которые ложатся в концепцию диссертанта. Вторая, почти полное отсутствие современных данных.* Если посчитать, сколько в диссертации ссылок на работы последних 5 лет, то мы узнаем, что их менее 4%. Ссылок на работы 2018 года – 0 шт. (0%); 2017 – 0 шт. (0%); 2016 – 1 шт. (0,5%); 2015 – 1 шт. (0,5%); 2014 – 5 шт. (2,8%). При поиске в системе PubMed по ключевым словам «radiofrequency electromagnetic» мы узнаем, что за последние пять лет вышло более 1000 статей. Среди них есть много статей по GSM связи, по теоретическим вопросам, вопросам влияния на биологические объекты и т.д. Если рассматривать пул статей по кальциевой сигнализации, то счет идет на тысячи. То есть, в последнее время вышло много статей посвященных вопросам рассматриваемым диссертантом. Возникает вопрос, где они?

В главе посвященной постановке экспериментов и методам проведения исследований приведено описание используемых в диссертации методов и подходов. Нужно сказать, что глава написана тщательно и понятно, не вызывает вопросов. Используемые методы и подходы позволяют решить поставленные в диссертации задачи. Большим плюсом, на мой взгляд, является наличие подглавы «Методы измерения интенсивности электромагнитных полей и оценка величины поглощения электромагнитной энергии в исследуемых объектах». Нужно отметить, что в данной подглаве присутствует много иллюстративного материала, который облегчает понимание. Единственным недостатком данной подглавы является полное отсутствие информации об источнике электромагнитного поля метрового диапазона, который используется во всех экспериментах. Известно только, что источник называется «Радий-301». К слову, частоту данного источника мы все же узнаем на странице 70 в подглаве 4.2.

Экспериментальные результаты представлены в трех главах (3-5). В главе 3 представлены результаты о влиянии электромагнитных полей на процессы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена в изолированном сердце крысы. Начинается все с описания данных о влиянии повторения циклов активации $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена в изолированном сердце контрольной группы крыс на скорость и количество поглощаемого и высвобождаемого Ca^{2+} . По-сути, подглава с разнообразными контрольными экспериментами. Все изложено довольно подробно, единственная информация, которую я не смог найти, это времена между циклами изменения концентрации катионов натрия. В контексте рассказа диссертанта информация не очень важная, но для оценки кинетик довольно значительная. Интересно, но при увеличении концентрации Na^+ до 142 ммоль/л стандартные ошибки регистрируемых величин существенно уменьшаются, на мой взгляд, это может быть зацепкой позволяющей выйти на механизм. ***На всех графиках не показан момент смены сред, интересно было бы знать почему?*** В следующей подглаве можно ознакомиться с численным моделированием условий экспозиции и оценка поглощения электромагнитной энергии изолированным сердцем крысы. После такой существенной подготовки диссертант переходит к главному блюду, а именно описанию динамики процесса $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена в изолированном сердце крысы в процессе и после облучения электромагнитным полем метрового диапазона. Получены интересные результаты, но использование отрицательных чисел при выражении концентраций (например, таких, как нмоль/г) существенно мешают пониманию.

Следующая глава посвящена исследованию влияния электромагнитного поля на уровень свободного $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в изолированных кардиомиоцитах крысы в зависимости от состояния перекисного окисления липидов. Главными отличиями этой главы является новая схема воздействия на объект. ***Проблемой главы, на мой взгляд, является не состыковка данных изложенных в диссертации (табл. 4.2 и рис. 4.6) и автореферате (рис.5). Легенда, к какому то из этих иллюстративных материалов подписана не корректно – это мешает пониманию! Также следует отметить, что диссертант достаточно вольно подходит к интерпретации результатов.*** Диссертант предполагает, что действие электромагнитного поля связано с изменением редокс гомеостаза. В диссертации диссертант не пишет об этом прямо, но всячески подводит Вас к этой мысли, здесь и словосочетание «перекисного окисления липидов» в названии главы и рассуждения об окислительном стрессе. В автореферате диссертант прямо пишет: «Причиной высвобождения ионов могло служить повреждение мембран ретикулума пероксидными реакциями в липидах, инициируемых ЭМП». Данное рассуждение строится на одной серии экспериментов. В ней при добавлении гистохрома наблюдается уменьшение концентрации свободного кальция в клетках, а при действии электромагнитного поля – увеличение. Нет, каких либо контрольных экспериментов, шам или положительных контролей. Даже не известно влияет ли воздействие, применяемое автором, на генерацию активных форм кислорода. Важной деталью является, то что гистохром растворяется в

водной фазе, а не липидной. В общем, интерпретация ряда результатов в этой главе является довольно шаткой. На мой взгляд, более правдоподобным был бы вариант основанный на следующих рассуждениях. Способность активных форм кислорода увеличивать внутриклеточную концентрацию ионов Ca^{2+} известна достаточно давно. Связано это может быть с несколькими внутриклеточными механизмами. Во-первых, как известно, основным продуцентом активных форм кислорода в клетке являются митохондрии. Митохондриальный окислительный стресс приводит не только к нарушению физиологических функций митохондрий, но и появлению такого патологического процесса, как открытие во внутренней мембране митохондрий Ca^{2+} -зависимой неселективной поры, известной как Mitochondrial permeability transition. При открытии этой поры во внутренней митохондриальной мембране происходит выход из органелл ионов Ca^{2+} , но также и проапоптотических белков (в частности цитохрома c). Помимо этого, активные формы кислорода способны стимулировать IP3 и рианодиновые рецепторы эндоплазматического ретикулума, которые являются основными путями выброса ионов Ca^{2+} . Существуют данные о том, что активные формы кислорода способны блокировать Ca^{2+} -зависимую АТФазу саркоплазматического ретикулума – SERCA, которая является механизмом аккумуляции ионов Ca^{2+} в ретикулуме. Все вместе это будет приводить увеличению цитоплазматической концентрации ионов Ca^{2+} , вызванной действием цитоплазматических активных форм кислорода на митохондриальные или ретикулярные белки, транспортирующие Ca^{2+} .

Трудно себе представить, что гидрофильный антиоксидант способен снижать образование гидроперекисей липидов в мембране. В гидрофобную область он просто не сможет проникнуть. Поэтому, несмотря на то, что при развитии окислительного стресса и происходят процессы перекисного окисления липидов, положительный эффект гистохрома по моему мнению в первую очередь связан со снижением активных форм кислорода в цитоплазме и предотвращении действия этих активных форм кислорода на мембранные белки, транспортирующие ионы кальция. Ингибиторный анализ мог бы помочь прояснить механизм действия электромагнитного поля на увеличение концентрации кальция в цитоплазме клеток. Однако, в настоящей работе такой проверки не проводилось.

Последняя экспериментальная глава посвящена оценке уровня перекисного окисления липидов в сыворотке крови крыс при действии электромагнитного поля. И снова появляется новая схема воздействия электромагнитным полем на объект, вернее две схемы. В первой подглаве проведено моделирование и экспериментальная оценка условий экспозиции крыс по новой схеме воздействия электромагнитным полем. Данная глава написано довольно понятно. В последующих подглавах происходит исследования влияния электромагнитного поля на образование различных продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и кетодиенов). Также с помощью не специфического теста исследован антиоксидантный потенциал. Результаты получены при разных схемах воздействия. Показаны разнонаправленные


тенденции, например, при действии электромагнитным полем количество диеновых конъюгатов уменьшается, а кетодиенов увеличивается. Делается «замечательный» вывод, о том, что «ЭМП метрового диапазона частотой 171 МГц с напряженностью 180 В/м (могут) влиять на процессы ПОЛ в организме животных».

После глав с экспериментальными результатами следует такая часть диссертации, как заключение. В заключении диссертант пытается связать воедино результаты трех экспериментальных глав. Поскольку условия воздействия электромагнитным полем во всех главах отличались, сравнивать результаты напрямую довольно сложно. Автор справляется с данной задачей с помощью аналогий. После заключения расположены выводы, они соответствуют полученным результатам. Сформулированы, как утверждения, касающиеся рассматриваемой ситуации.

Несмотря на некоторую критику, диссертационная работа Богачевой Елены Васильевны является самостоятельным и законченным научным исследованием, в котором сформулирован ряд научных положений, являющихся новыми по своей постановке и предлагаемым направлениями решения. Автореферат, в целом, отражает содержание диссертации. Результаты, изложенные в диссертации, прошли апробацию на конференциях и симпозиумах. Всего опубликована 23 работы, из них 9 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, в том числе 3 работы в журнале «Радиационная биология. Радиоэкология».

Диссертационная работа Богачевой Елены Васильевны «Влияние электромагнитных полей метрового диапазона длин волн на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмен в изолированном сердце крысы» удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, (с изменениями № 335 от 21.04.2016)), а ее автор, Богачева Елена Васильевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Ведущий научный сотрудник
Научного центра волновых исследований
Института общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук,
доктор биологических наук


С.В. Гудков

Федеральное государственное учреждение науки Научный центр волновых исследований Института общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 38, ИОФ РАН.

S_makariy@rambler.ru,
+79151530850

Подпись заверяю
заместитель директора
НЦВИ ИОФ РАН
А.В. Свиридова


29.05.2018