

ОТЗЫВ

официального оппонента Ягужинского Льва Сергеевича
на диссертационную работу Столяровой Анны Олеговны
«РЕГУЛЯЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ
ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС В УСЛОВИЯХ
ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕЛАКСЕНА И ЭПИФАМИНА»,
*представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.04 – биохимия*

Актуальность исследования

Тема представленной диссертационной работы является актуальной, поскольку проблема инсульта остаётся на протяжении последних лет одной из наиболее острых проблем современной медицины. Данная патология характеризуется широкой распространенностью, тяжелыми осложнениями у перенёсших заболевание пациентов, высоким уровнем смертности и инвалидизации среди больных. В настоящее время имеются сведения, свидетельствующие о значимой роли окислительного стресса в повреждении клеток и тканей в условиях ишемии. Вместе с тем, остаются вопросы в понимании метаболических сдвигов, возникающих на фоне постишемической реперфузии. Исходя из этого, значительный интерес вызывают исследования особенностей свободнорадикального окисления и функционирования антиоксидантной защиты организма при данной патологии. Высокую актуальность имеют также исследования, направленные на поиск потенциальных веществ – протекторов, способных демонстрировать значительный нейропротекторный и антиоксидантный потенциал. Интерес в этом плане могут представлять мелаксен и эпифамин – регуляторы

содержания в организме мелатонина – гормона, обладающего широким спектром биологической активности. Таким образом, в связи с тяжестью протекания и широкой распространенностью ишемического и реперфузионного повреждения головного мозга, актуальной задачей представляется анализ возможности применения указанных препаратов в качестве терапевтических средств, для коррекции данного патологического состояния. В связи с этим, было проведено исследование параметров свободнорадикального окисления, интенсивности апоптотических процессов, активности антиоксидантной системы и уровня мРНК генов важнейших антиоксидантных ферментов и транскрипционных факторов при развитии ишемии/реперфузии головного мозга и воздействии мелаксена и эпифамина в эксперименте на животных. Теоретическая значимость работы заключается в выяснении механизмов регуляции свободнорадикального гомеостаза в патологическом состоянии и поиске способов его коррекции, что позволяет найти оптимальные пути решения ряда фундаментальных и прикладных биологических и медицинских проблем.

Научная новизна исследования

Автором впервые проведено комплексное исследование интенсивности протекания свободнорадикального окисления, апоптотических процессов, активности ферментативного звена и содержания неферментативных компонентов антиоксидантной системы, уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов, активности некоторых ферментов окислительного метаболизма, уровня мРНК генов транскрипционных факторов, участвующих в регуляции антиоксидантного ответа и нейровоспалительных реакций, при развитии ишемии/реперфузии головного мозга и воздействии мелатонин-корректирующих препаратов в эксперименте на животных. Показано, что введение протекторов приводило к снижению интенсивности свободнорадикального окисления и апоптотических

процессов, а также нормализации функционирования антиоксидантных ферментов, выразившейся изменением показателей их активности и уровня транскриптов генов в направлении контрольных значений. Исследовано воздействие мелаксена и эпифамина на работу некоторых НАДФН-генерирующих ферментов, поставляющих восстановительные потенциалы для глутатионовой антиоксидантной системы. Показано изменение в направлении контроля уровня мРНК генов исследуемых транскрипционных факторов под воздействием мелатонин-корректирующих препаратов.

Научно-практическая значимость работы

Практическая значимость диссертационной работы заключается в возможности использования результатов проведенного исследования в качестве основы для разработки новых способов метаболической коррекции состояния окислительного стресса, развивающегося при ишемии/реперфузии головного мозга. Кроме этого, полученные в ходе работы данные способствуют углублению фундаментальных представлений о путях реализации протекторного и антиоксидантного действия мелатонин-корректирующих препаратов, а также пониманию механизмов, лежащих в основе нарушений метаболизма при развитии данного заболевания. Материалы исследования применяются в учебной работе на медико-биологическом факультете Воронежского государственного университета, а также при проведении практикумов, выполнении курсовых и выпускных квалификационных работ студентами Воронежского государственного университета.

Структура диссертации

Структура диссертации стандартна для работ подобного рода. Работа написана на 180 страницах текста. В диссертации представлены: введение, литературный обзор, глава, содержащая описание объекта и методов

исследования, 3 главы, содержащие полученные результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы (317 источников). Иллюстративный материал включает, 4 таблицы и 23 рисунка.

В диссертационной работе представлен достаточно обстоятельный литературный обзор, в котором обобщаются данные, касающиеся характеристики биохимических процессов, имеющих место при развитии ишемии и реперфузии головного мозга, в частности роли свободнорадикального окисления в патогенезе заболевания и функционирования антиоксидантной системы организма в условиях оксидативного стресса. Обзор литературы включает данные большого числа как отечественных, так и зарубежных источников.

Экспериментальная часть работы выполнена на достаточно высоком научно-методическом уровне с использованием современных биохимических и молекулярно-биологических методов. Все методы подробно описаны во 2-ой главе и могут быть легко воспроизведены. Исследование интенсивности свободнорадикальных процессов проводилось методами биохемилюминесценции и спектрофотометрии. Оценку маркерных показателей развития патологии и оценку содержания продукта метаболизма мелатонина осуществляли с использованием соответствующих диагностических наборов. Интенсивность апоптотических процессов оценивали по степени фрагментации ДНК методом электрофореза и спектрофотометрически по активности каспазы-3 и -8. Активность антиоксидантной защиты организма анализировалась с помощью спектрофотометрических методов, уровень мРНК генов антиоксидантных ферментов и изучаемых транскрипционных факторов оценивался с помощью ПЦР в реальном времени. Результаты экспериментальной работы подвергались математической обработке с применением статистических критериев.

В главе 3 приведены результаты оценки уровня лактата – продукта анаэробного катаболизма глюкозы, и мелатонинсульфата – основного метаболита мелатонина. Кроме того, в данной главе представлены результаты анализа интенсивности свободнорадикального окисления в тканях крыс экспериментальных групп. Было показано, что изучаемые параметры под действием мелатонин-корректирующих препаратов изменялись в сторону контрольных значений. Наряду с этим, проводилось исследование уровня транскриптов генов факторов NF- κ B и HIF1, которое свидетельствовало об уменьшении количества мРНК данных белков, играющих ключевое значение в регуляции воспаления и использовании кислорода.

В главе 4 приводятся результаты исследования воздействия мелаксена на активность апоптотических процессов в мозге крыс с ишемией/реперфузией. Продемонстрировано уменьшение интенсивности протекания данного вида гибели клеток под воздействием тестируемого препарата.

В главе 5 представлены данные по воздействию мелатонин-корректирующих препаратов на активность антиоксидантной системы, а также уровень транскриптов генов важнейших антиоксидантных ферментов и факторов, участвующих в реализации адаптивного клеточного ответа на окислительный стресс. Исходя из полученных диссертантом результатов, введение протекторов приводило к сдвигу анализируемых параметров в направлении нормы.

Материалы, представленные в этих главах, достаточно объемны.

В заключении диссертант приводит гипотетическую схему, отражающую возможное участие исследуемых препаратов в регуляции свободнорадикального гомеостаза при ишемии/реперфузии головного мозга. Эта схема отражает основные направления работы исследователя.

Полученные в данной работе результаты могут быть интересны с точки зрения обобщения и систематизации представлений о сопряжении функционирования отдельных компонентов антиоксидантной системы и ферментов клеточного метаболизма, имеющих значение для регуляции уровня активных форм кислорода при патологиях, сопровождающихся окислительным стрессом, и действии веществ-протекторов с антиоксидантными свойствами.

Автореферат и опубликованные по теме диссертации научные работы соответствуют содержанию диссертации.

В то же время работа не лишена и некоторых недостатков:

1. Целесообразным представлялось бы включение в работу данных, касающихся воздействия мелаксена и эпифамина на функционирование церулоплазмينا при ишемии/реперфузии головного мозга.


2. Автор в работе приводит данные о содержании восстановленного глутатиона в норме. Представляется целесообразным также определение уровня окисленного глутатиона в тканях животных экспериментальных групп.

3. Приводимая в заключении работы гипотетическая схема регуляции свободнорадикального гомеостаза построена не очень наглядно. Было бы желательным более чётко разнести и выделить отдельные циклы, связанные с гипоксией, синтезом АФК, апоптозом и активацией защитных механизмов в ядре. Было бы желательным более подробно обсудить конкретные механизмы действия мелаксена и эпифамина, в частности их действие на митохондрии.

Однако, несмотря на замечания, работа представляется новой, интересной, проведенной на высоком методическом уровне. Выводы, сделанные автором, подкреплены обширным экспериментальным материалом.

Заключение

Диссертация Столяровой Анны Олеговны «Регуляция свободнорадикального гомеостаза при ишемии/реперфузии головного мозга у крыс в условиях воздействия мелаксена и эпифамина» представляет собой завершённое научное исследование, вносящее существенный вклад в решение проблемы поиска путей коррекции патологического состояния, развивающегося при ишемии/реперфузии головного мозга. Диссертация полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а её автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Заведующий лабораторией структуры и функции мембран
научно-исследовательского института
физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова,
доктор биологических наук, профессор Ягужинский Л.С. 
Российская Федерация, 119992, г. Москва,
Ленинские горы, дом 1, строение 40,
Телефон: 8 (495) 930-00-87
E-mail: yag@genebee.msu.su

