

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. проректора по научной
и исследовательской деятельности
Южного федерального университета
Д.Х.Н., С.Н.С.

А.В. Метелица
26 октября 2018



ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» о диссертационной работе СТОЛЯРОВОЙ А.О. «Регуляция свободнорадикального гомеостаза при ишемии/реперфузии головного мозга у крыс в условиях воздействия мелаксена и эпифамина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.01.04 - Биохимия

Структура и объем работы

Структура представленной диссертационной работы стандартна и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части и обсуждения результатов (2-5 главы), заключения, выводов и списка литературы (317 источников). Иллюстративный материал включает 23 рисунка и 4 таблицы.

В диссертационной работе представлен достаточно обстоятельный литературный обзор, полно освещающий вопросы, касающиеся тематики проведенного исследования. В нем рассмотрены следующие аспекты: проблема ишемического и реперфузионного повреждения головного мозга, роль свободнорадикального окисления в развитии данных нарушений, функционирование антиокислительной системы организма в условиях оксидативного стресса, регуляция различных физиологических процессов под действием гормона мелатонина. Подробно освещены биохимические механизмы развития ишемии головного мозга, уделено внимание транскрипционной регуляции адаптивного ответа клеток на повреждающие

стрессовые факторы. Обзор литературы охватывает широкий круг вопросов, а его отдельные части взаимосвязаны и дополняют друг друга, имеют прямое отношение к основной теме диссертации.

В целом обзор литературы написан с использованием большого количества современных источников, которые достаточно аккуратно цитируются, изложен хорошим языком и с интересом читается.

Экспериментальная часть работы производит положительное впечатление, выполнена на высоком научно-методическом уровне, содержит современные методы и подходы физико-химической и молекулярной биологии, адекватные поставленным задачам. Описание постановки эксперимента не вызывает сомнения в его корректности. В исследованиях используются адекватные поставленным задачам современные биохимические методы, которые описаны подробно и могут быть легко воспроизведены. Использование в экспериментах лабораторных крыс осуществлялось в соответствии с принципами гуманности и требованиями международных правил гуманного отношения к животным (УК РФ ст. 245). Автором была проведена необходимая статистическая обработка данных.

В ходе анализа полученных данных было впервые показано, что индукция ишемии/реперфузии головного мозга сопровождалась возрастанием интенсивности окислительной модификации белков в тканях животных, уровня транскриптов генов факторов NF- κ B и NIF-1, чувствительных к редокс-статусу клеток и концентрации кислорода, увеличением активности апоптотических процессов, а также уровня мРНК генов важнейших антиоксидантных ферментов и их транскрипционных регуляторов – факторов NRF2 и FOXO1. Введение мелаксена и эпифамина – препаратов, корригирующих уровень мелатонина, приводило к изменению в направлении контрольных значений указанных параметров, а вместе с тем и интенсивности биохемилюминесценции, пероксидного окисления липидов, активности антиоксидантных ферментов и поставщиков НАДФН для функционирования глутатионовой антиокислительной системы. Кроме этого, следует отметить,

что продемонстрировано дозозависимое воздействие тестируемых соединений на свободнорадикальный гомеостаз животных с ишемией/реперфузией головного мозга. Наиболее выраженный позитивный эффект был выявлен при использовании мелаксена в дозе 10 мг/кг веса тела животного. На основании проведенных исследований предложена гипотетическая схема влияния мелаксена и эпифамина на свободнорадикальный гомеостаз при ишемии/реперфузии головного мозга.

Актуальность темы выполненной работы

Одним из наиболее острых вопросов биомедицины в настоящее время является проблема инсульта – патологического состояния, характеризующегося широкой распространенностью, тяжелыми осложнениями у перенёсших заболевание пациентов, высоким уровнем смертности и инвалидизации среди больных. Основной причиной развития инсульта является ишемия головного мозга – сложный патологический процесс, сопряженный с формированием острого энергетического дефицита в нейронах и последующего развития необратимых повреждений в нервной ткани на фоне кислородного голодания. Восстановление кровоснабжения после ишемии, называемое реперфузией, способно привести к усугублению нарушений обменных процессов в головном мозге и возникновению еще более значительных повреждений.

Для клеток ишемизированной ткани характерно снижение рН среды вследствие накопления продукта анаэробного метаболизма глюкозы – лактата, чрезмерное усиление образования свободных радикалов и активация окислительного стресса, который представляет собой неспецифический повреждающий фактор, характерный для широкого ряда патологий. Функцию защиты от оксидативного повреждения биомолекул выполняет антиоксидантная система, резервов которой в ряде случаев может оказаться недостаточно. Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза и лактат-ацидоз являются одним из центральных пусковых факторов формирования инфаркта мозга в ишемизированной области.

В настоящее время к одному из перспективных направлений биомедицины относится разработка новых способов терапии сопряженных с развитием оксидативного стресса заболеваний путем коррекции уровня мелатонина в организме. К препаратам, корректирующим уровень данного гормона, можно отнести мелаксен, являющийся синтетическим аналогом мелатонина, синтезированным из аминокислот растительного происхождения. Эпифамин, представляющий собой комплекс белков и нуклеопротеидов из шишковидной железы крупного рогатого скота, также обладает мелатонин-корректирующей активностью, обусловленной избирательным действием на клетки эпифиза.

Исследования, направленные на оценку проявления нейропротекторного эффекта и регуляцию свободнорадикального гомеостаза мелатонин-корректирующими препаратами при ишемическом и реперфузионном поражении головного мозга представляются актуальными, поскольку обеспечивают значительный вклад в разработку способов коррекции сдвигов метаболизма при патологии и способствуют поиску новых подходов в терапии данных нарушений.

Таким образом, актуальность темы диссертации Столяровой А.О. не вызывает сомнения. Постановка цели диссертационного исследования отвечает современным представлениям о патогенезе ишемического и реперфузионного повреждения головного мозга как о системной патологии и является своевременной и патогенетически обусловленной.

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.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, для науки и практики

В ходе работы впервые было проведено комплексное исследование воздействия мелаксена и эпифамина в условиях индукции ишемии/реперфузии головного мозга на интенсивность протекания свободнорадикальных и апоптотических процессов, уровень мРНК ряда транскрипционных факторов (NF-kB, NRF2, FOXO1, HIF1), активность антиоксидантных ферментов и уровень транскриптов их генов, содержание ферментативных компонентов антиоксидантной системы, активности некоторых ферментов окислительного метаболизма. Показано, что воздействие мелаксена и эпифамина на фоне развития патологии способствовало снижению степени ишемического повреждения, активности нейровоспалительных и апоптотических процессов, а также нормализации функционирования системы антиокислительной защиты. Полученные результаты отражены в гипотетической схеме, демонстрирующей роль мелатонин-корректирующих препаратов в регуляции свободнорадикального гомеостаза при развитии ишемии/реперфузии головного мозга.

Данные, полученные в ходе проведенного исследования, имеют высокую ценность с точки зрения углубления фундаментальных знаний о регуляции свободнорадикального гомеостаза при развитии ишемического и реперфузионного повреждения, а также вносят вклад в представления о биологической активности и протекторных свойствах гормона мелатонина. С другой стороны, результаты работы могут использоваться в качестве научной базы для разработки инновационных подходов к коррекции патологий головного мозга ишемической природы путем регуляции уровня эндогенного мелатонина. Таким образом, опираясь на подобные исследования, возможно создание более эффективных стратегий терапии социально-значимых заболеваний с использованием средств с антиоксидантной активностью наряду с традиционными препаратами.

Помимо этого, используемые в ходе работы методы и подходы могут иметь определенную ценность в качестве информативных показателей в диагностике состояния оксидативного статуса при патологиях ишемического генеза, а также при мониторинге протекания свободнорадикального окисления и сопряженных с ним процессов в процессе лечения.

Научная обоснованность результатов диссертационного исследования аргументирована большим количеством фактического материала, новизна не только данных полученных в результате проведенных исследований, но и новизна ряда подходов автора не вызывает сомнения.

Замечания по диссертации

В целом диссертационная работа оставляет хорошее впечатление. Принципиальных замечаний к работе Столяровой нет. Научная значимость, достоверность и обоснованность результатов, представленных диссертантом, не вызывают сомнения.

Вместе с тем, на наш взгляд, интересная экспериментальная работа, выполненная диссертантом, вынуждает поставить перед автором ряд вопросов, которые, несомненно, носят дискуссионный характер и подчёркивают актуальность и значимость выполненной диссертации:

1. По результатам исследования более эффективным протектором оказался мелаксен – синтетический аналог мелатонина. Было бы интересно оценить антиокислительную активность данного соединения *in vitro*.
2. Из текста работы не ясно, каким образом были выбраны дозы для исследования мелаксена и эпифамина.
3. В исследовании приводятся данные, свидетельствующие об изменении уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов, что может выступать в качестве одного из механизмов регуляции активности компонентов антиокислительной защиты. В то же время, было бы целесообразно провести оценку каталитических свойств анализируемых ферментов для выяснения зависимости их активности от конформационного состояния молекул.

Сделанные замечания не носят принципиального характера и не умаляют основных достоинств рецензируемой диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные диссертантом результаты могут быть использованы при проведении научно-исследовательской работы и в учебном процессе при чтении лекций по общему курсу “Биохимия” и спецкурсов по энзимологии, патобиохимии в Воронежском государственном университете, Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко, Южном федеральном университете, Российском национальном исследовательском медицинском университете имени Н.И. Пирогова, Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Институте теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук и ряде других учебных и научных центров России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашему мнению, диссертация А.О. Столяровой «Регуляция свободнорадикального гомеостаза при ишемии/реперфузии головного мозга у крыс в условиях воздействия мелаксена и эпифамина» является самостоятельным законченным научным исследованием и соответствует паспорту специальности 03.01.04 – биохимия, отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, в которой содержится решение актуальной задачи по исследованию регуляции свободнорадикального гомеостаза при ишемии/реперфузии головного мозга и воздействии мелатонин-корректирующих препаратов в эксперименте на животных.

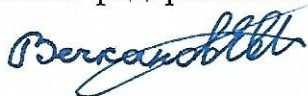
Отзыв подготовлен доктором биологических наук (14.00.16 – патологическая физиология и 14.00.32 – авиационная, космическая и морская медицина), профессором кафедры биохимии и микробиологии Академии

биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета Внуковым Валерием Валентиновичем (344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, тел. 89044452927, e-mail: vvvnukov@sfedu.ru).

Отзыв обсужден и утвержден на расширенном заседании кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, протокол № 5 от 23 октября года 2018 г.

И.о. заведующего кафедрой
биохимии и микробиологии
Академии биологии и
биотехнологии им. Д.И. Ивановского
ФГАОУ ВО "Южный федеральный университет",

к.б.н., доцент



Вечканов Евгений Михайлович



Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Южный федеральный университет»

И.о. подписи Вечканова Е. М.

ЗАВЕРЯЮ:

Специалист по работе с персоналом
I категории М. В. Шодникова М. В.
« 26 » октября 2018 г.

Адрес: Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону,
Просп. Стачки, 194/1,
Кафедра биохимии и микробиологии ЮФУ
Тел: 8(928)102-74-41
e-mail: emvechkanov@sfedu.ru

26 октября 2018 г.