

119121, гор. Москва, ул. Погодинская, 10, стр.8

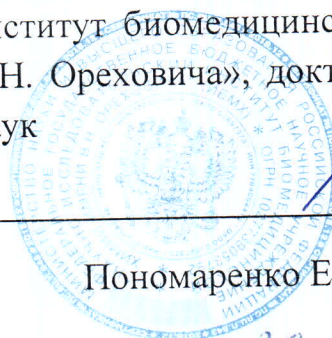
тел.: (+7/499) 246-69-80, (+7/499) 246-34-66, факс: (+7/499) 245-08-57, эл. почта: inst@ibmc.msk.ru, http://www.ibmc.msk.ru
ОКПО 01897373, ОГРН 1027739053792, ИНН/КПП 7704084419 / 770401001, ОКАТО 45286590000

№ 20

«30» 01 2020 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», доктор биологических наук



Пономаренко Елена Александровна

«30» января 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Девятова Александра Андреевича на тему: «Изучение влияния некоторых биологически активных веществ пищи на формирование ишемического повреждения головного мозга крыс», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - «Биохимия»

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Девятова А.А посвящена поиску эффективных препаратов-нейропротекторов для терапии ишемического инсульта. Актуальность исследования обусловлена высоким уровнем смертности и инвалидизации населения вследствие острых нарушений мозгового кровообращения, среди которых одним из самых распространённых является инсульт по ишемическому типу. В работе изучено действие на крысиной модели ишемического инсульта трёх минорных компонентов пищи: дипептида карнозина, а также флавоноидов кверцетина и гесперетина. Выбор

данных веществ связан с их высокой антиоксидантной активностью, так как по современным представлениям, одним из ключевых молекулярных механизмов, приводящих к гибели нейронов при ишемии головного мозга, является окислительный стресс. Для всех трёх веществ в литературе показаны нейропротекторные эффекты на различных модельных исследованиях. При этом остается малоизученным вопрос об эффективности данных соединений в условиях временной фокальной ишемии головного мозга при их длительном профилактическом применении. Кроме того, данные вещества ранее не изучались в экспериментальных моделях ишемического инсульта, в качестве компонентов пищевого рациона. Таким образом, связь с таким социально-значимым заболеванием, как ишемический инсульт, определяют высокую актуальность диссертации А.А. Девятова.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Соискатель получил ряд результатов, представляющих интерес как с прикладной, так и научной точек зрения. На модели ишемического инсульта показано нейропротекторное действие карнозина в низких дозах (от 50 до 150 мг/кг м.т. в сут.) как при профилактическом, так и при терапевтическом введении. Кроме того, защитный эффект карнозина продемонстрирован в условиях 72 ч необратимой фокальной ишемии и в условиях 24 ч ишемии/реперфузии мозга у крыс. Делается вывод, что нейропротекторный эффект карнозина при ишемии реализуется не только через снижение окислительного стресса, но и через ингибирование сигнальных путей апоптоза. Для гесперетина также показано прямое нейропротекторное действие при профилактическом введении в условиях ишемии/реперфузии мозга у крыс. В работе показано, что кора головного мозга в норме гетерогенна по показателям окислительного статуса. Показано, что нарушение окислительного статуса мозга через сутки после начала ишемии как при ишемии/реперфузии, так и при постоянной ишемии не распространяется за пределы ишемизированного полушария, тогда как изменения профиля белков апоптоза затрагивают ткань обоих полушарий.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе работы получены новые данные о состоянии оксидативного статуса разных отделов головного мозга в норме и при фокальной ишемии. В частности, данные о неоднородном состоянии оксидативного статуса в коре мозга являются важным фактором при выборе участка коры мозга для отбора проб, а также интерпретации результатов исследования. Выявлена зависимость направления изменения активности антиоксидантных ферментов и продуктов ПОЛ в ткани мозга от удалённости ишемического очага.

Результаты исследования внедрены в научную и практическую работу ФГБНУ НЦН, о чём был составлен соответствующий акт внедрения. Также результаты работы могут быть внедрены в работу Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России и ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук.

Структура и основное содержание диссертации

Диссертационная работа Девятова А.А. построена по традиционной схеме, изложена на 122 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц и 34 рисунка. Работа включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений, и список литературы, включающего 221 источник.

Работа начинается с введения, в котором автором представлена актуальность выбранной темы исследования, степень разработанности темы, представлены цель и задачи настоящей работы, приводится научная новизна и практическая значимость работы, кратко освещены методология и методы диссертационного исследования, перечислены выносимые на защиту положения работы, отмечена степень достоверности результатов и перечислены российские конференции, на которых проводилась апробация результатов.

В главе «Обзор литературы» приведены основные сведения об ишемическом инсульте, рассматриваются основные механизмы повреждения нервной ткани, описываются современные и перспективные методы терапии ишемического инсульта. Проанализированы данные литературы о нейропротекторном действии выбранных для исследования веществ (дипептида карнозина, а также флавоноидов кверцетина и гесперетина) на различных экспериментальных моделях. В последней части главы автор описывает способы моделирования ишемического инсульта головного мозга в экспериментальных исследованиях и даёт обоснование выбранным в данной работе экспериментальным методикам.

В главе «Материалы и методы исследования» дано описание каждого из этапов исследования: условия содержания животных, составы рационов, моделирование фокальной ишемии мозга, получение образцов биологических тканей, планиметрическую оценку некротического очага в мозге, биохимические методы оценки антиоксидантного статуса, воспаления и апоптоза в образцах, а также методы статистической обработки данных.

Полученные в работе результаты представлены и обсуждаются в главе «Результаты и обсуждение». В первом разделе данной главы автор приводит данные по оценке влияния изучаемых веществ на размер некротического очага при фокальной ишемии-реперфузии мозга, а также необратимой ишемии. Описывать результаты измерения данного параметра в самом начале результатов представляется логичным ввиду того, что он является определяющим в оценке эффективности применения того или иного вещества при фокальной ишемии мозга. В следующем разделе автор описывает влияние веществ на биохимические показатели ткани мозга и плазмы крови животных. Каждый подраздел данной главы является результатом отдельного эксперимента.

В главе «Заключение» автор обобщает полученные экспериментальные данные и соотносит их с данными литературы. Автор рассматривает влияние ишемии с реперфузией и необратимой ишемии на регистрируемые

биохимические параметры, суммируя данные нескольких экспериментов. Обращает на себя внимание, что автором, помимо выполнения поставленных задач, были получены данные, которые изначально не были сформулированы в цели и задачах исследования, а именно данные о гетерогенности оксидативного статуса коры больших полушарий при ишемии. Затем автор последовательно для каждого вещества анализирует полученные данные по их влиянию на фокальную ишемию. Параллельно с этим, соискатель сравнивает между собой механизмы действия изучаемых веществ на развитие ишемического повреждения. В конце данной главы диссертант приводит схему патохимического каскада при ишемии, на которой обозначает возможные места действия карнозина и гесперитина в качестве веществ-нейропротекторов.

Результаты работы отражены в автореферате диссертации. Основное содержание представлено в 13 публикациях, из них 7 статей в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Замечания и комментарии к работе

В диссертационной работе представлен большой набор экспериментальных данных, однако наличие пунктуационных и стилистических погрешностей, а также опечатки затрудняют восприятие полученных соискателем результатов.

Название диссертационной работы не в полной мере отражает ее содержание, что может затруднить библиографический поиск.

В работе использованы две экспериментальные модели – фокальная ишемия-реперфузия и необратимая фокальная ишемия; каждый тип эксперимента включал по две контрольных группы животных, которые были обозначены автором и в том и в другом случае как «контроль 1» и «контроль 2» (раздел «Материалы и методы исследования», подраздел 3.2, стр. 43-44). Присвоение разным контрольным группам одинакового обозначения может приводить к путанице при анализе полученных автором результатов. При описании дизайна экспериментов в случае экспериментальной модели необратимая фокальная ишемия стоило ввести другое обозначение контрольных групп, например,

«контроль 3» и «контроль 4». Кроме того, отсутствует обоснование использования двух контрольных групп для каждой модели ишемии.

При описании дизайна экспериментов (раздел 3.2) не указано количество животных, образующих контрольные и опытные группы, что не позволяет судить о достоверности выявленных различий, в связи с чем вывод о целесообразности проведения клинических испытаний представляется преждевременным.

В разделе 4.1.1 главы «Результаты и обсуждение» приведено процентное изменение площади ишемического очага в результате предварительного приема животными карнозина, гесперетина и кверцетина по отношению к контролю 2. Следовало проиллюстрировать данные изменения.

Одни и те же результаты (глава «Результаты и обсуждение») представлены соискателем одновременно и в виде таблицы, и в виде рисунка (например, таблице 4.1 соответствует рисунок 4.1, таблице 4.2 соответствует рисунок 4.2 и так далее, вплоть до таблицы 4.18 и рисунка 4.18; начиная с таблицы 4.19, каждой таблице соответствуют уже два рисунка, в данном случае рисунки 4.19 и 4.20; таблицам 4.20 - 4.23 соответствуют рисунки 4.21 - 4.28).

Результаты работы по изучению нейропротекторного действия дипептида карнозина были апробированы и представлены на Всероссийских научных конференциях с международным участием, а также опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для защиты по специальности 03.01.04 – «Биохимия». Что же касается результатов, относящихся к исследованию влияния флавоноидов кверцетина и гесперетина на экспериментальную фокальную ишемию/реперфузию, то они нашли отражение только в материалах XVII Всероссийского конгресса с международным участием "Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Лечебное, профилактическое и спортивное питание", Москва, 29-31 октября 2018 г. (Вопросы питания. –2018. –Т. 87, No 5. Приложение. –С. 256–257).

Заключение

Диссертационная работа Девятова А.А. на тему: «Изучение влияния некоторых биологически активных веществ пищи на формирование

ишемического повреждения головного мозга крыс» является законченным научным трудом, результаты которого могут иметь практическое значение для профилактики ишемического инсульта и реабилитации больных. Данная работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения научных степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. в действующей редакции, а ее автор Девятков А.А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - «Биохимия».

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном межлабораторном семинаре Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (протокол № 01_20 от 30.01.2020 г.).

Академик РАН, д.б.н.

 /Лисица А.В./

Ведущий научный сотрудник, к.б.н.

 /Петушкова Н.А./

Сведения о составителях отзыва:

Лисица Андрей Валерьевич, доктор биологических наук по специальности 03.01.09 – «Математическая биология, биоинформатика», академик РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»;

Петушкова Наталия Анатольевна, кандидат биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия», ведущий научный сотрудник лаборатории микросомального окисления Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Адрес: 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8

Телефон: +7 (499)246-69-80

Электронная почта: sur450@mail.ru

30 января 2020 года

Подпись


заверяю
Ученый секретарь ИБМХ к.х.н. Карпова Е.А.

М.П.

Карпова Е.А.