

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Ивановой Анны Владимировны

«Состояние окислительного фосфорилирования и антиоксидантного статуса митохондрий ткани головного мозга при гипогликемической коме и различных способах её купирования», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия

Изменение содержания глюкозы в крови издавна привлекает внимание исследователей и медиков, а ее мониторинг является краеугольным камнем проблемы сахарного диабета. В свою очередь, сама проблема гипогликемии впервые появилась ещё с первой половины 20 века с момента введения в медицинскую практику экзогенного инсулина. В настоящее время считается, что основной причиной гипогликемии является избыток инсулина в организме по отношению к поступлению экзогенных и эндогенных источников углеводов. Кроме гипогликемии, которая непосредственно связана с медикаментозной сахароснижающей терапией, данное состояние может быть обусловлено и рядом других причин, а именно: ускоренной утилизацией углеводов, например, при мышечной работе, неправильным питанием, нарушением всасывания сахара в кишечнике, приёмом алкоголя, патологиями со стороны печени и почек, лекарственными взаимодействиями препаратов, хроническими заболеваниями, например, лейкоемия и ряд других. Известно, что головной мозг чрезвычайно чувствителен к снижению концентрации глюкозы, так как она является основным источником энергии для него. В связи с тем, что последствия длительной гипогликемической комы могут иметь тяжелые, необратимые последствия, работы по изучению механизмов компенсации и адаптации головного мозга в условиях гипогликемии до настоящего времени привлекают внимание широкого круга исследователей в области биохимии, физиологии и медицины. Установлено, что на начальном этапе развития гипогликемии, т.е. в период адаптации, потребление кислорода мозговой тканью не снижается на фоне падения

поступления глюкозы и скорости ее катаболизма. Однако до сих пор нет ясности, на каких этапах гипогликемии начинают развиваться такие наиболее тяжелые, а также необратимые изменения в метаболизме ткани мозга. В настоящее время полагают, что одной из основных причин развития цитотоксических эффектов и гибели нейронов является чрезмерная активация глутаматэргических структур мозга. Кроме того, исследованиями последних лет установлено, что при тяжелой гипогликемии происходит интенсификация процессов окисления липидов мембран митохондрий мозга. Также было показано, что углекислый газ является универсальным ингибитором генерации активных форм кислорода различными клетками человека и животных, в том числе мозговой ткани и доказана возможность дозированного влияния гипоксических и гиперкапнических газовых смесей на его функциональные резервы, что позволяет по-новому с позиции роли активных форм кислорода, объяснить ряд физиологических и патофизиологических эффектов CO_2

Всё выше сказанное указывает на актуальность и своевременность темы диссертационной работы Ивановой Анны Владимировны, выполненной в ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ. Исходя из этого, и были определены цель и задачи данного диссертационного исследования.

Диссертационная работа Ивановой А.В. выполнена в традиционном стиле и представляет собой рукопись объёмом 126 страниц машинописного текста. Она состоит из введения, где освещены вопросы обоснования научной проблемы и задачи исследования; 3-х глав: обзора литературы, посвященному причинам и клиническим проявлениям гипогликемических состояний, а также особенностям метаболизма и энергетического обмена головного мозга при гипогликемических состояниях и после их купирования; во второй главе освещены вопросы организации и методов исследования; третья – посвящена экспериментальному обоснованию состояния окислительной и энергообразующей функций митохондрий головного мозга

при гипогликемии; заключения и выводов по результатам диссертационной работы. Результаты исследований суммированы и обобщены в 12 таблицах и проиллюстрированы 2 рисунками. Список цитируемой литературы содержит 216 наименований.

Введение отражает актуальность работы, в нем обосновывается выбор направления данного исследования. Автором четко сформулирована цель работы – проведение сравнительного анализа метаболических изменений в работе и антиоксидантного статуса дыхательных цепей ферментов митохондрий при гипогликемической коме и в различные сроки восстановительного периода после её купирования. В соответствии с этим Иванова А.В. сформулировала ряд конкретных задач, являющихся этапами выполнения экспериментального исследования. В данном разделе диссертации изложены научная новизна, а также теоретическое и практическое значение рецензируемой работы.

В обзоре литературы диссертационной работы дан подробный анализ современного состояния изучаемой проблемы. Глава обзора литературы, включает в себя сведения о современных представлениях гипогликемических состояниях, их причинах и клинических проявлениях. В литературном обзоре достаточно широко освещены особенности энергетического обмена и метаболизма глюкозы, а также патохимические механизмы повреждения нейронов при гипогликемии и способы купирования данного состояния.

В целом обзор литературы свидетельствует об эрудиции диссертантки, её способности к обобщению и систематизации данных других авторов и вполне вводит читателя в круг исследуемых проблем.

По данному разделу работы хотелось бы услышать мнение автора по вопросу:

- при гипогликемии, чтобы избежать повреждения жизненно важных органов и структур, в организме вступает в действие система адаптации, которая позволяет повысить уровень глюкозы. Известно, что адреналин и

глюкагон являются наиболее важными гормонами обратной регуляции во время острой гипогликемии. Что Вам известно по данному вопросу?

Собственные оригинальные исследования изложены в 2-х главах, составляющих основу диссертационного исследования. Раздел «Экспериментальные животные, условия опытов и методы исследования» содержит подробное описание всего арсенала, использованных автором методик. В целом подбор методов свидетельствует о грамотном и тщательном подходе к экспериментальному исследованию. Характеризуя этот раздел работы, следует отметить, что методы, избранные и использованные диссертантом, адекватны поставленным целям и задачам исследования, а их высокая специфичность и разрешающая способность обеспечивают получение однозначных, убедительных результатов.

В 3-й главе диссертационной работы представлены оригинальные результаты, полученные автором, совокупность которых дала возможность решить поставленные перед диссертанткой задачи и сформулировать соответствующие заключения и выводы. Нужно отметить: что экспериментальная часть выполнена с грамотным применением высокотехнологичных методов исследования и подходов к анализу полученных результатов.

Несомненным достоинством данной работы является проведенный автором всесторонний анализ взаимосвязи дыхания и фосфорилирующей способности митохондрий интактных животных, при гипогликемическом шоке, а также при купировании гипогликемических судорожных состояний. Автором убедительно показано, что в судорожный этап инсулининдуцированной гипогликемической комы повышается дыхательная активность и окислительное фосфорилирование в митохондриях ткани головного мозга. Необходимо отметить, что купирование судорожного состояния животных введением глюкозы, в отличие от использования глютамата натрия в сочетании с углекислым газом, даже спустя сутки не

приводит к возврату показателей дыхательной и фосфорилирующей активности митохондрий мозга к нормальным значениям. Однако, несмотря на принципиальные различия в способах купирования судорожного состояния, в обоих случаях спустя сутки функциональное состояние митохондрий оставалось существенно измененным по отношению к контрольным значениям. В рецензируемой работе также представлены материалы по изучению процессов липопероксидации в мембранах митохондрий при гипогликемии, при этом автор пришла к выводу о том, что антиоксидантные возможности митохондрий мозга остаются неисчерпанными.

В разделе «Заключение» автор провела обобщение и критический анализ полученных в ходе проведенного исследования результатов.

Научная новизна диссертационной работы в первую очередь определяется тем, что автором был впервые проведен всесторонний анализ взаимосвязи поглощения кислорода и окислительного фосфорилирования митохондриями головного мозга крыс, как на ранней стадии развития гипогликемической комы, так и в различные сроки после ее классического купирования глюкозой.

Учитывая выше изложенное, необходимо отметить принципиально новые данные, полученные в диссертационной работе:

- результаты исследования дыхательной и фосфорилирующей способности митохондрий мозга при использовании альтернативного способа купирования гипогликемического судорожного синдрома введением глутамата натрия с одновременным вдыханием воздушной гиперкапнической газовой смеси

- установлена интенсификация процессов липопероксидации в митохондриальных мембранах головного мозга уже в начальные сроки восстановительного периода после купирования гипогликемического шока

- в диссертационной работе оценена возможность антиоксидантного потенциала митохондрий головного мозга

Практическая и теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты расширяют существующие представления о развитии метаболических изменений в ткани мозга в условиях тяжелой гипогликемии.

Диссертационная работа имеет также и научно-практическую значимость для медицинской практики, а именно, полученные результаты являются перспективными в плане выработки новых подходов к коррекции выявляемых нарушений при гипогликемии, а также разработке превентивных мер её профилактики.

Совокупность представленных экспериментальных данных дала возможность автору решить поставленные перед ней задачи, а также сделать соответствующие заключения и выводы.

Представленные в диссертации материалы не только подтверждают достоверность проведенных исследований, но и служат научным обоснованием всех положений, выдвинутых автором на защиту.

Диссертационная работа написана хорошим языком, текст работы хорошо выверен и практически не содержит опечаток.

Автореферат составлен в соответствии с существующими требованиями и полностью соответствует сведениям, изложенным в диссертационной работе.

По материалам диссертации автором опубликовано 11 работ, 2 из которых опубликовано в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Результаты диссертационной работы прошли апробацию на авторитетных Всероссийских и Международных конференциях.

Биохимические исследования, представленные в работе Ивановой Анны Владимировны, выполнены хорошо и принципиальных замечаний к работе нет.

Хотелось бы услышать мнение диссертантки по следующим вопросам:

1. При исследовании процессов липопероксидации целесообразно изучать реакции энергетического обмена и расходование в организме кислорода во взаимосвязи с состоянием основных антиоксидантных ферментов. Планируете ли Вы в дальнейшем провести данное исследование и что известно по этому вопросу в современной научной литературе?

2. Говоря о «неблагоприятных изменениях в митохондриальных мембранах» мозга, что Вы подразумеваете под этим термином? Включаете ли Вы в это понятие процессы, связанные с органическими изменениями в структуре мембран митохондрий? Имеются ли на этот счет какие-либо данные в ранее проводимых работах?

3. В диссертационной работе Вы применяете купирование судорожного состояния подкожным введением животным раствора глутамата натрия (0,5 г на 1 кг массы тела) с последующим их помещением в проточную газовую камеру, куда подавалась гиперкапническая газовая смесь (7% CO₂). Что известно об уровне эндогенного глутамата при гипогликемии?

4. Какие именно, по Вашему мнению, рекомендации могут быть предложены на основании полученных в исследовании результатов для практической медицины?

Высказанные вопросы и замечания не умаляют достоинств работы, носят сугубо частный и скорее дискуссионный характер.

Заключение

Диссертационная работа Ивановой Анны Владимировны «Состояние окислительного фосфорилирования и антиоксидантного статуса митохондрий ткани головного мозга при гипогликемической коме и различных способах её купирования», является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение актуальной задачи биохимии,

связанной с научным обоснованием разработки новых подходов к коррекции нарушений, проявляющихся при гипогликемии, а также её профилактики.

Принимая во внимание актуальность выполненной работы, обоснованность и новизну научных положений, научно-практическую значимость полученных результатов и высокий методический уровень исследований, можно заключить, что диссертационная работа Ивановой Анны Владимировны полностью соответствует критериям п. 9, утвержденных постановлением «о порядке присуждения ученых степеней» правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заведующая кафедрой биохимии
ГБОУ ВПО СПХФА МЗ РФ
СПб, ул. проф. Попова, 14
доктор биологических наук,
заведующая кафедрой биохимии СПХФА,
профессор



Кириллова
Надежда Васильевна Кириллова

Подпись руки *Кириллова Н.В.*
Удостоверяю *29.01.2016*
Начальник ОД *Гаврилов И.С.*