

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера
Минздрава России)
ИНН 5902290120/КПП 590201001
ОГРН 1025900528873
ОКПО 01963404 ОКТМО 57701000
614990 г. Пермь, ул. Петропавловская, 26
Тел. +7 (342) 217-21-20, факс +7 (342) 217-20-21
E-mail: psmu@psma.ru



30.08.2024 № 8465
На № _____ от _____

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации
Батоцыреновой Екатерины Геннадьевны
«Биохимические механизмы фармакологической коррекции
функционального состояния организма в условиях светового десинхроноза»
(экспериментальное исследование), представленной на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальностям: 1.5.4. Биохимия и
3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Актуальность избранной темы

Циркадианные ритмы организуют работу биосистем, определяют физическую, психическую, поведенческую ритмичность человека, позволяют организму адаптироваться к ежедневным потребностям, сохранять устойчивость к действию факторов внешней среды. Режим освещения — основной внешний синхронизирующий фактор для всех живых систем. Изменение светового сигнала приводит к нарушению ритмичности синтеза многих молекул, что изменяет скорость процессов, в частности, связанных с получением необходимого количества АТФ в клетках. Важным является вопрос о десинхронизации между центральным пейсмекером — супрахиазматическими ядрами гипоталамуса и периферическими ритмозадателями при хроническом нарушении светового режима. Измененный режим сна и бодрствования, приема пищи, изменения режима освещения могут нарушать сбалансированную сеть внутренних часов. Сбой ритма может привести к необратимым последствиям.

Многие заболевания (ожирение, сахарный диабет, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, онкологические заболевания) связаны с десинхронизацией биологических ритмов. Работники со сменным режимом труда (вахтовые рабочие, военнослужащие, врачи, пилоты, космонавты, подводники, люди, работающие на Севере) подвергаются более высокому риску развития метаболических нарушений, что скорее всего, является результатом десинхронизации между внутренними часами и внешним световым режимом. Не расшифрованы полностью механизмы взаимодействия метаболических и циркадных процессов. Неясно, как циркадный ритм регулирует адаптацию к гипоксии. Для поддержания баланса молекулярных часов требуется фармакологическая поддержка. Диссертационная работа Батоцыреновой Е. Г. безусловно актуальна, поскольку посвящена изучению биохимических механизмов, лежащих в основе реакции периферической циркадианной системы на длительное изменение светового режима, для обоснования фармакологической коррекции функционального состояния организма.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа выполнялась в рамках государственного задания «Разработка подходов к коррекции нарушений функционального состояния организма при отравлениях нейротоксикантами в условиях изменения светового режима», шифр «Ритм» (рег. № НИР АААА-А18-118031290067-6) в ФГБУН ИТ ФМБА России.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование Батоцыреновой Е. Г. отличается высокой степенью научной новизны. Впервые в условиях хронического светового десинхроноза дана комплексная оценка изменений показателей антиоксидантной системы (АОС), перекисного окисления липидов, энергетического обмена, нейротрофических факторов. Для выявления точек

взаимодействия светового фактора и клеточного окислительно-восстановительного осциллятора было впервые использовано моделирование «окислительного давления» в сочетании со световым десинхронозом. На данной модели комплексно были исследованы показатели антиоксидантной системы, энергетического обмена, нейротрофические факторы. Полученные результаты обработаны несколькими статистическими методами для обнаружения взаимосвязей между различными параметрами. Выявлено, что при хроническом световом десинхронозе наблюдается дисбаланс в ферментативном и неферментативном звене антиоксидантной системы в эритроцитах и в клетках тканей головного мозга. Изменения показателей энергетического обмена свидетельствуют о дефиците кислорода в тканях мозга при изменении светового режима. Повышение активности Na^+, K^+ -АТФазы микросом мозга в условиях гипоксии при нарушении циркадианной ритмичности свидетельствует о влиянии светового режима на активность фермента и связано с изменением редокс-потенциала клетки. Нарушение гомеостаза нейротрофических факторов при хроническом изменении светового режима с преобладанием процессов нейродеструкции свидетельствует о необходимости фармакологической коррекции нейропротекторами. Снижение содержания нейротрофического фактора мозга BDNF при постоянном освещении в течение месяца после отравления тиопенталом натрия говорит о возможном нарушении синаптической пластичности, нарушении консолидации памяти. Изменения на молекулярном уровне были соотнесены с изменениями на уровне организма, а именно, на поведенческих реакциях и на когнитивных навыках. Установлено, что световой десинхроноз нарушает двигательную активность животных, проявляется в эмоциональной апатии. На основании выявленных патогенетических «точках» взаимодействия светового фактора с окислительно-восстановительным осциллятором клетки, выбраны соответствующие фармакологические субстанции, которые и были использованы в эксперименте для поддержания функциональной активности организма в условиях светового десинхроноза. Одно из соединений,

сукциноильное производное мелатонина, синтезировано в институте токсикологии, получен патент на его использование в качестве хронобиотика. Другое вещество пептидной природы получено из гипофиза Северного оленя. Стоит отметить, что исследование коррекции циркадианной аритмии пептидами, полученными из гипофиза Северного оленя, ранее не проводилось. Пептидный экстракт проявил антиоксидантную, антигипоксическую, нейропротекторную, хронобиотическую активности. Новизна исследования подтверждена двумя патентами на изобретение. В результате применения фармакологических субстанций разного строения двигательная функция животных и их когнитивные навыки через 3 месяца светового десинхроноза были на уровне контрольной группы. Таким образом, показано, что при хроническом световом десинхронозе медикаментозная коррекция синхронизирует различные уровни хроноструктуры организма между собой и позволяет адаптивно реагировать на факторы внешней среды.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Представленные в диссертационной работе Батоцыреновой Е. Г. научные положения, выводы, рекомендации являются обоснованными, соответствуют цели и задачам исследования. Работа выполнена на достаточном объеме экспериментального материала (1200 крыс самцов). Для анализа были использованы эритроциты и плазма крови, ткани головного мозга крыс. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется логической структурой исследования и тщательной детальной интерпретацией полученных результатов. Все использованные автором биохимические методы исследования информативны, современны, достаточно точны и адекватны поставленным задачам. Наряду с биохимическими методами исследованиями были проведены исследования на уровне организма в тестах «Открытое поле» и «Условная реакция пассивного избегания». Достаточный объем материала, формирование групп, современные методы исследования и грамотный

статистический анализ не позволяют усомниться в обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в данной работе.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Научная значимость диссертационного исследования Батоцыреновой Е.Г. не вызывает сомнений. Результаты работы расширяют фундаментальные знания об основных биохимических нарушениях при хроническом световом десинхронозе. Приведены доказательства участия циркадианной системы в генерации свободных радикалов, в модуляции активности антиоксидантной системы, ее чувствительности к кислороду. Выявлена возможность воздействия на клеточный осциллятор, изменяя окислительно-восстановительный потенциал, за счет использования антиоксидантных фармакологических субстанций. Разработанную модель «усиления окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза целесообразно использовать для оценки эффективности различных субстанций при выявлении антиоксидантного, антигипоксанта, ноотропного действия. Для диагностики нарушений, связанных с хроническим световым десинхронозом, может быть использовано определение показателей АОС в эритроцитах периферической крови. Фармакологическая коррекция функциональных расстройств человека из-за экстремального изменения светового режима актуальна при выполнении задач в военной сфере, в медицинской практике, при чрезвычайных обстоятельствах. Экспериментально обосновано использование при хроническом световом десинхронозе производных мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Диссертация представлена в 1 томе на 348 страницах, изложена в традиционной форме, состоит из введения, главы обзора литературы, главы с описанием объектов и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов и

рекомендаций. Список литературы включает 563 источника, в том числе 406 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 174 таблицами.

Во введении автор обосновала выбор темы, ее актуальность, степень разработанности, цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, новизну, теоретическую и практическую значимость, апробацию результатов исследования на конференциях Российского и Международного уровней, публикации по теме диссертации, личный вклад.

Первая глава диссертации - литературный обзор, изложен на 40 страницах, состоит из пяти подглав, написан тщательно, чувствуется знание автором литературы. Обзор отличает информативность, логика изложения материала, хороший стиль. В первой подглаве обзора автор описывает структуру циркадианной системы, связь между циркадными часами, метаболизмом и гипоксией. Вторая подглава обзора посвящена описанию методических подходов к моделированию световых десинхронозов. В третьей подглаве обзора дана характеристика тиопентала натрия. В четвертой подглаве обзора представлены сведения о фармакологической коррекции нарушений циркадиантных ритмов. Дана характеристика хронобиотикам прямого действия, (мелатонин и его производные). В пятой подглаве обзора дана характеристика хронобиотикам непрямого действия (малые молекулы и вещества пептидной природы).

Во второй главе диссертации «Материалы и методы» (на 13 страницах) автор детально освещает методические особенности моделирования «окислительного давления», биохимические методы по изучению антиоксидантной системы, нейротрофических факторов, проведения поведенческих и когнитивных тестов. Биохимические маркеры нейротоксичности в сыворотке крови определяли методом ИФА. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли концентрацию катехоламинов. Тщательно описаны выбранные препараты для фармакологической коррекции. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения Attestat, версия 13. Для

статистической оценки взаимодействия двух факторов использовался двухфакторный дисперсионный анализ.

В третьей главе «Моделирование светового десинхроноза» представлен метод моделирования светового десинхроноза и доказательства, что десинхроноз сформирован. На 433 крысах в условиях изменения светового режима методом косинор-анализа доказано развитие светового десинхроноза за счет сдвига акрофазы ряда биохимических показателей сыворотки крови.

В четвертой главе «Комплексное изучение изменений биохимических и поведенческих показателей в условиях светового десинхроноза» приводятся экспериментальные результаты по исследованию параметров, полученных в эритроцитах и в тканях головного мозга при световом десинхронозе и при «усилении окислительного давления». В условиях длительного светового десинхроноза выявлены дисбаланс ферментного и неферментного звена АОС в тканях головного мозга и эритроцитах, гипоксия, истощение биоэнергетических ресурсов, нарушение гомеостаза нейротрофических факторов в тканях головного мозга (рост маркеров деструкции и снижение нейропротекторных факторов). Нарушение ритмичности синтеза компонентов антиоксидантной системы при световом десинхронозе способствует формированию гипоксии в исследуемых тканях, что нарушает процессы нейропротекции. Это приводит к расстройству высшей нервной деятельности, нарушению поисковой и когнитивной функций. Выявлено прямое влияние светового режима на концентрацию катехоламинов, особенно дофамина. Установлено, что длительный световой десинхроноз в условиях «усиления окислительного давления» приводит к дисбалансу энергетического гомеостаза, усилению дисбаланса АОС, снижению двигательной активности крыс, астении, обездвиженности, нарушению психоэмоциональной активности, развитию депрессии, ухудшению процесса обучения и воспроизведения информации.

Глава 5 «Изучение механизмов специфической активности новых фармакологических средств коррекции светового десинхроноза». Были использованы в исследовании три препарата: сукциноилное производное

мелатонина (KSE-02), мелатонин, пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Каждый препарат в дозе 100 мкг/кг вводили интраназально, 1 раз в сутки в течение 14 дней. Проведено изучение влияния выбранных фармакологических субстанций в условиях светового десинхроноза на показатели антиоксидантной системы эритроцитов и тканей головного мозга крыс, активность ферментов энергетического обмена в головном мозге и плазме крови, содержание катехоламинов и нейротрофических факторов в плазме крови. Дана оценка поведенческим показателям крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции. Выявлено, что в условиях светового десинхроноза производное мелатонина (KSE-02) проявляет антиоксидантный, антигипоксанта́ный, хронобиотический и нейропротекторный эффекты. Мелатонин проявляет антиоксидантный эффект при обоих режимах освещения, а хронобиотический эффект только при постоянном освещении. Установлено, что пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в условиях светового десинхроноза проявляет антиоксидантный, антигипоксанта́ный, хронобиотический, нейропротекторный и адаптогенный эффекты. Показано, что применение KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя при изменении светового режима улучшило двигательную активность и проявление эмоций животных (адаптогенная и ноотропная активности). Использование пептидного экстракта гипофиза Северного оленя способствовало увеличению количества обучаемых животных.

В главе "Заключение" диссертант тщательно обсудила собственные результаты и представила перспективы дальнейших исследований. Материал излагается последовательно, достаточно подробно и логично. Необходимо отметить обоснованность суждений автора и глубокое знание научной темы. Автор приходит к заключению о том, что в условиях длительного светового десинхроноза использование модели «окислительного давления» выявило взаимосвязи при десинхронизации внешних и внутренних ритмов, что открывает новые пути фармакологической коррекции для их синхронизации. Работа завершается 11 выводами, которые закономерно вытекают из

содержания работы, соответствуют цели и задачам исследования и имеют важное научное и практическое значение. Представлены аргументированные практические рекомендации. Диссертационная работа носит завершённый характер, оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает содержание и основные положения диссертационной работы. Оформление автореферата соответствует современным требованиям. Замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет.

Подтверждение опубликования результатов диссертации в рецензируемых научных изданиях, апробация исследования

Научные положения диссертации Батоцыреновой Е.Г. полностью отражены в 40 научных публикациях, из которых 7 научных статей в изданиях ВАК, 8 статей – в журналах, индексируемых в Scopus и WoS. По материалам исследования получено 2 патента на изобретение РФ. Результаты диссертации были доложены на 1 международной и на 14 Российских научных конференциях, в том числе с международным участием.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты исследования Батоцыреновой Е.Г. связаны с оценкой рисков развития сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных, психических заболеваний, в основе которых лежит внутренняя десинхронизация разных уровней осцилляторов с внешним световым сигналом. Поэтому полученные результаты будут полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ (Санкт-Петербург), в Институте медико-биологических проблем РАН, НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва), в Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, в «Сибирском государственном медицинском университете» МЗ РФ, в ФГБУ «НМИЦ онкологии им.

Н. Н. Петрова» МЗ РФ, ФГБНУ «ИЭМ» (Санкт-Петербург). Результаты и выводы, сделанные в данном диссертационном исследовании, должны быть использованы в педиатрических исследованиях, для профилактики развития метаболических, психических нарушений у детей, связанных с нарушением светового режима при использовании слабо излучающих гаджетов в ночное время.

**Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации,
мнение о научной работе соискателя в целом**

Диссертация является законченным исследованием, выполненным автором на высоком научном уровне. Содержание, структура и оформление диссертационной работы соответствуют требованиям, предъявляемым к работе на соискание ученой степени доктора биологических наук. Высоко оценивая работу, необходимо также высказать некоторые замечания по ее оформлению:

1. В списке литературы не всегда указан номер журнала.
 2. В тексте имеются отдельные стилистические неточности, опечатки.
- Сделанные мною замечания не являются принципиальными и не умаляют значимости данной работы.

В процессе ознакомления с диссертационной работой возникли следующие вопросы:

1. Почему в качестве соединения для моделирования «усиления окислительного давления» был выбран тиопентал натрия?
2. Каков процент выживших животных после тиопенталовой комы?
3. Чем обусловлен выбор объектов исследования? Считает ли автор перспективным дальнейшее изучение воздействия светового десинхроноза на показатели антиоксидантной системы других клеток крови, помимо эритроцитов?
4. Чем обоснован выбор точек исследования (1 и 3 месяца)?
5. Почему в эритроцитах крови крыс не изменяется содержание восстановленного глутатиона через 1 месяц после «усиления

окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме (постоянная темнота)?

6. С чем Вы связываете снижение активности глутатионредуктазы в тканях мозга крыс через 3 месяца светового десинхроноза при действии всех трех исследуемых фармакологических субстанций?
7. Почему в выводах не отмечено влияние светового десинхроноза на содержание катехоламинов в плазме крови?

Заданные мною вопросы носят дискуссионный характер и подчеркивают интерес, который вызывает данная научная работа.

Заключение

Диссертация Батоцыреновой Екатерины Геннадьевны «Биохимические механизмы фармакологической коррекции функционального состояния организма в условиях светового десинхроноза» (экспериментальное исследование), представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 1.5.4. Биохимия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки), является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение важной научной проблемы по выявлению биохимических механизмов, лежащих в основе реакции периферической циркадианной системы на длительное изменение светового режима, для обоснования фармакологической коррекции функционального состояния организма, что имеет значение для развития биохимии, фармакологии, биологии и медицины. В частности, раскрыты механизмы воздействия светового сигнала на параметры антиоксидантной системы, энергообеспечения клеток, окислительно-восстановительного потенциала периферической осцилляторной системы. По своей актуальности, научной новизне и достоверности результатов исследования, методическим подходам, теоретической и практической значимости, обоснованности выводов диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Батоцыренова Екатерина Геннадьевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 1.5.4. Биохимия 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Отзыв на диссертацию составлен доктором медицинских наук, профессором, заведующей кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России Н.А. Терехиной, заслушан, обсужден и одобрен на заседании кафедры биологической химии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (протокол №11 от 30.08.2024).

Заведующая кафедрой биологической химии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Пермский государственный медицинский
университет имени академика Е.А. Вагнера»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук (03.00.04 –биохимия),
профессор
30. 08. 2024

Наталья Александровна Терехина

Подпись д.м.н., профессора Н.А. Терехиной заверяю
Начальник отдела кадров ФГБОУ ВО ПГМУ
им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России
30. 08. 2024

И.А. Болотова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Пермский государственный медицинский университет
имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

Почтовый адрес: Россия, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул.
Петропавловская, 26
тел. +7(342) 217-21-20, e-mail: psmu@psma.ru e-mail: terekhina@list.ru

