

ОТЗЫВ

официального оппонента Чернышевой Марины Павловны, профессора кафедры медико-биологических дисциплин ЧОУВО «СПбМСИ» на диссертационную работу Рожковой Ирины Семеновны «Хронобиологические аспекты онтогенеза в экспериментальной модели хронического стресса и его коррекции комплексом антиоксидантов», представленную к защите в Диссертационный Совет 24.2.267.02 при ФГБОУВО «Адыгейский государственный университет» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности

1.5.5 – Физиология человека и животных

Актуальность темы исследования.

Актуальность выбранной Ириной Семеновной Рожковой темы диссертационной работы не вызывает сомнений. Она счастливо сочетает решение одной из проблем фундаментальной биологии – раскрытие механизмов адаптивности временной структуры организма - и актуальную экологическую проблематику, посвященную механизмам токсичного воздействия сероводорода и его коррекции веществами-антиоксидантами. В первом случае автор концентрирует внимание на исследовании окологосударственных ритмов синтеза белков. Ритмы жизнедеятельности с таким периодом, по сравнению с окологосударственными (циркадианными), изучены крайне недостаточно. Поскольку и те, и другие ритмы «накладываются» на направленное время онтогенеза, то предполагают, что они могут определять специфику метаболизма его определенного периода (Albrehtetal., 2018) и, соответственно, характерную для этого периода скорость биологического времени (например, скорость процессов старения или снижения синтеза белков). Следовательно, временные параметры окологосударственных ритмов могут быть маркерами определенного периода онтогенеза. Однако для подтверждения тому были необходимы дополнительные исследования по резистентности этих ритмов к повреждающим воздействиям окружающей среды. В качестве таковых автор использует сероводород.

Особая актуальность исследуемой проблемы обусловлена ухудшением экологической обстановки в Астраханской области, связанной с загрязнением атмосферы серосодержащими продуктами. Ежегодно в воздушный бассейн региона поступает до 230 тысяч тонн химических веществ, из которых до 90% составляют выбросы от работы промышленных предприятий и автотранспорта. Серосодержащие соединения Астраханского газоконденсатного месторождения, являясь мощным токсическим и стрессорным антропогенным фактором, влияют на жизненно важные физиологические системы, в том числе, на иммунную систему, вызывают снижение эффективности

антиоксидантной защиты, способствуют свободно-радикальному повреждению клеточных структур, апоптозу и, как результат, приводят к развитию различных возрастных патологий. В частности, показано (Pushchina et al., 2020, и др.), что сероводород является одним из факторов генеза ряда известных нейродегенеративных заболеваний. Заметим, что поллютанты блокируют взаимодействие белков часовых генов, обеспечивающих циркадианные ритмы метаболизма и сна-бодрствования и нарушают их. В клинической практике эти эффекты известны как первые признаки развития болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. Однако не известно, насколько чувствительны к действию токсических веществ механизмы ультрадианных (околочасовых) ритмов, своеобразных «кирпичиков» в механизмах поддержания метаболического гомеостаза.

Научная новизна исследования и полученных результатов.

Экспериментальное исследование, выполненное Ириной Семеновной Рожковой, вносит важный вклад в изучение механизмов и закономерностей формирования хронофизиологических процессов. Автор впервые на хорошей доказательной базе установила, что темпоральные параметры околочасовых ритмов содержания белков плазмы крови и белков лимфоидных органов могут служить маркерами возрастных периодов онтогенеза. Это подтверждено выраженным снижением амплитуды и удлинением периодов околочасовых колебаний у старых крыс в отличие от неполовозрелых и половозрелых животных контрольных групп.

Полученные в диссертационной работе результаты исследования влияния хронического воздействия сероводород-содержащей газовой смеси впервые показали, что стресс-фактор может изменять временную структуру организма. Это проявилось в снижении амплитуды околочасовых колебаний, сглаживании кинетической кривой, изменении периодов околочасовых осцилляций уровня содержания белков, интенсификации свободно-радикальных процессов в плазме крови и тканях иммунной системы, а так же эозинопении. Диссертант пришла к весьма значимому заключению о зависимости выраженности изменений исследованных околочасовых ритмов от возрастных особенностей уровня метаболических процессов. Это подтверждает ранее высказанное в литературе предположение о взаимодействии околочасовых осцилляций физиологических параметров защитных реакций с направленным временем онтогенеза.

Использование современных общегистологических, цитофотометрических и биохимических методов исследования данной проблемы позволило автору комплексно рассмотреть возрастные особенности околочасовых ритмов белков плазмы крови и в органах иммунной системы. Выполненное И.С. Рожковой детальное морфологическое

исследование изменений в структурах иммунной системы, возникающих в условиях хронического стресса, впервые позволило говорить о разной степени резистентности окологоризовых ритмов к стрессорным воздействиям в разных возрастных группах, максимальной – у половозрелых животных.

Особый интерес представляют результаты изучения протекторного эффекта комплекса антиоксидантов, включающего гормон тимуса тималин и α -токоферола ацетат. Автором показано, что они вызывали снижение влияния хронического стресса на изменение амплитуды окологоризовых колебаний биохимических показателей в плазме крови и тканях иммунной системы у животных всех возрастных групп, однако у старых животных защитные антиоксидантный и антиапоптотический эффекты комплекса препаратов были более выражены как в норме, так и в условиях хронического стресса. Повидимому, это отражает действие одного из законов гомеостатической регуляции, - закона фона, лежащего в основании многих адаптивных реакций стресс-ответа организма. По направленности и результатам эту часть диссертационного исследования И.С. Рожковой можно отнести к хроноэкологии, - одной из новых областей физиологии, имеющей большие практические и теоретические перспективы.

Автором впервые показаны неизвестные ранее отличия в динамике окологоризовых ритмов содержания белка в плазме крови, в лимфатических узлах, тимусе и селезенке крыс разного возраста при нормальном развитии, при воздействии природного сероводородсодержащего газа и в условиях применения антиоксидантов. Впервые установлен период наибольшей чувствительности к таким воздействиям. Автором выявлены особенности свободно-радикальных процессов в плазме крови и в органах иммунной системы крыс в норме. Проведена оценка влияния газообразных серосодержащих поллютантов на уровень свободно-радикальных процессов на изучаемых этапах онтогенеза и в условиях применения антиоксидантов.

В исследовании И.С. Рожковой изучены характерные эффекты воздействия сероводородсодержащего газа, и доказано влияние комплекса антиоксидантов на апоптоз клеточных элементов тканей иммунной системы экспериментальных животных на разных этапах постнатального онтогенеза. Автором показана возможность комплексного применения альфа-токоферола ацетата и тималина в качестве адаптогенов, обладающих способностью повышать устойчивость плазмы крови и синхронизировать деятельность иммунокомпетентных клеток тимуса, лимфатических узлов и селезенки, для поддержания гомеостаза и адаптационных возможностей иммунной системы при стрессе.

В рецензируемом исследовании впервые получены данные об особенностях структурно-функционального состояния клеток органов иммунной системы крыс в

условиях хронической гипоксии, вызванной воздействием сероводородсодержащего газа, модифицирующем околочасовые ритмы, что нарушает временную структуру организма млекопитающих и приводит к снижению жизнеспособности организма и преждевременному старению.

Результаты исследования И.С. Рожковой вносят весомый вклад в развитие теории стресса, существенно дополняя и расширяя современные представления о роли экологических стресс-факторов в трансформации временной структуры организма млекопитающих и особенностях её адаптивных реакций.

Выявленные автором периоды онтогенеза с наибольшей чувствительности к негативному экзогенному влиянию серосодержащих поллютантов могут использоваться для разработки комплексных охранных и профилактических мероприятий в экологически неблагоприятных зонах, где возможно внезапное появление или длительное присутствие токсикантов. Особенно следует отметить, что результаты диссертационной работы И.С. Рожковой представляют интерес и для клиницистов. Полученные данные о возрастных и тканеспецифических особенностях реакции органов иммунной системы, обусловленных стрессом, могут служить обоснованием возможности комплексного использования антиоксидантов для замедления темпов апоптоза и для своевременной коррекции патологий иммунной системы на фоне хронической гипоксии. Результаты экспериментального исследования могут быть использованы для дальнейшего развития новых современных научных направлений: хронофизиологии и хроноэкологии.

Содержание работы, ее завершенность и оформление.

Диссертация написана по классическому плану, изложена на 388 страницах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, заключение и выводы. Работа иллюстрирована 48 таблицами, 172 рисунками и микрофотографиями, двумя схемами. Список литературы обширен и включает 658 источников, в том числе 408 – отечественных и 250 – зарубежных.

Методы исследования, использованные в работе, современны, разнообразны, адекватны поставленным задачам, что позволило автору получить важные для фундаментальной науки и клинической практики результаты. Все количественные данные обрабатывались статистически и не вызывают сомнений. Основные положения, выводы и рекомендации автора логически обоснованы и полностью вытекают из полученных фактов.

Результаты исследования изложены в 10 выводах, которые полностью соответствуют поставленным задачам исследования. Материалы исследования докладывались на всероссийских и международных симпозиумах и опубликованы в 51 печатных работах, в том числе в монографии «Околочасовые клеточные ритмы при различных функциональных состояниях организма и токсическом воздействии». 16 работ опубликованы в центральной печати (перечень ВАК) и 14 - в международных научных журналах.

Во введении автор аргументирует актуальность темы, степень ее разработанности, раскрывает новизну исследования. Цели и задачи работы четко сформулированы и отражают дальнейшую направленность исследования. Решение поставленных задач автором осуществляется поэтапно. В каждой из глав работы приводятся полученные данные исследования, позволяющие выйти на итоговый результат, содержащий научную новизну.

Первая глава диссертационной работы И.С. Рожковой посвящена обзору и сравнительному анализу отечественных и зарубежных литературных источников. Она содержит 4 подраздела, в которых представлена информация по проблемам, затронутым в диссертации. Автор уделяет большое внимание анализу формирования околочасовых ритмов и ответной реакции организма млекопитающих, развивающихся на фоне стрессогенных воздействий. В целом обзор литературы обширен и является достойным обоснованием для постановки задач дальнейшего исследования и обсуждения полученных результатов.

Вторая глава диссертации содержит подробную информацию об объектах, методах и дизайне исследования, выполненного автором. Дана характеристика возрастных групп лабораторных животных, а также изложены условия моделирования хронического стресса при ингаляции воздушно-газовой смеси сероводородом у крыс. Заметим, что автор отчетливо представляет сложность этого воздействия и ответа на него: как стресс-фактор ингаляция сероводородной смесью вызывает первичную гипоксемию тканей с последующим ростом компенсаторного свободнорадикального окисления, неизбежно дополняющего повреждающее воздействие высоких доз сероводорода на клетки. Это служит логичным обоснованием для тестирования автором препаратов, обладающих антиоксидантным и против-апоптотическим эффектами, в целях коррекции действия стресс-фактора.

Используемые в работе общегистологические и биохимические методики современны, разнообразны и отвечают цели и задачам исследования. Объем полученных

результатов является достаточным, Все количественные данные обрабатывались статистически и не вызывают сомнения.

В последующих главах диссертационной работы(главы 3 - 7), изложены результаты собственных исследований, включающие: изучение околочасовых ритмов структурно-функциональных процессов в тканях органов иммунной системы и в плазме крови на разных этапах онтогенеза в естественных условиях жизнедеятельности лабораторных животных (крыс), а также при экспериментальном моделировании гипоксического стресса путем ингаляции сероводород-содержащей смеси и коррекции его последствий комплексом антиоксидантов. Основные результаты исследования иллюстрированы рисунками, сведены в таблицы и схемы.

Автором выявлены особенности свободно-радикальных процессов в плазме крови, в иммунокомпетентных органах крыс и проведена оценка влияния газообразных серосодержащих поллютантов на уровень перекисного окисления липидов и окислительную модификацию белков на изучаемых этапах онтогенеза и в условиях применения антиоксидантов. Прослежена взаимосвязь структурных изменений в лимфатических узлах, тимусе и селезенке крыс с возрастом экспериментальных животных и были установлены эффекты влияния наэтапах онтогенеза используемого комплекса антиоксидантов.

Автором доказано, что воздействие продуктов Астраханского газоконденсатного месторождения не только приводит к изменениям в морфологии клеток, но и нарушает хронобиологическую систему организма на разных уровнях организации (клеточном и тканевом). Так же И.С. Рожковой установлено, что витамин Е и тималин оказывают антиоксидантное и антиапоптотическое в органах иммунной системы крыс всех возрастных групп, но с более выраженным эффектом у неполовозрелых и старых животных.

Раздел «Заключение» по объему и содержанию соответствует полноценному «Обсуждению результатов». Этот раздел посвящен обобщению результатов исследований околочасовых ритмов белков плазмы крови и функциональной активности органов иммунной системы в разные периоды онтогенеза крыс при стрессе и на фоне введения комплекса антиоксидантов. В процессе анализа собственных результатов исследования И.С. Рожкова интересно сопоставляет их с данными научной литературы. Автор достаточно корректно и грамотно использовала известные научные методы для получения результатов и обоснования выводов и рекомендаций. Анализ структуры и изложения содержания показал, что диссертационная работа И.С. Рожковой, является законченной научной квалификационной работой, имеющей фундаментальный характер.

Личный вклад автора.

Личный вклад соискателя состоит в том, что И.С. Рожкова непосредственно выполняла все этапы диссертационного исследования – начиная от выбора направления и темы работы, осуществления поиска необходимой научной информации, планирования и непосредственного выполнения всех этапов исследования с последующей статистической обработкой, и до описания и анализа полученных результатов. На основе данных исследования И.С. Рожкова подготовила и опубликовала научные статьи, учебные пособия, монографию.

Оценивая в целом диссертационную работу И.С. Рожковой положительно, считаю целесообразным остановиться на некоторых вопросах, возникших при чтении диссертации и автореферата:

1. Имеются ли в литературе данные о действии сероводорода на лимфоциты?
2. С чем связан выбор паховых лимфоузлов для исследования?
3. Известно, что сероводород как нейромедиатор в ЦНС оказывает тормозное воздействие, сочетающееся с протекторным или, при высоких концентрациях, повреждающим эффектами. Хотелось бы узнать Ваше мнение об эффектах сероводорода в иммунной системе: обусловлены ли они высокой концентрацией газа в ингаляционных смесях, использованных в Вашей работе? Или в этом проявляется тканевая специфика?
4. Наблюдаемые Вами в условиях гипоксии изменения в лимфоидных органах и лимфоцитах происходят по-разному в разные периоды онтогенеза. С чем это может быть связано?

Заключение.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Ирины Семёновны Рожковой «Хронобиологические аспекты онтогенеза в экспериментальной модели хронического стресса и его коррекции комплексом антиоксидантов» по актуальности, научной новизне, объёму исследовательской работы, теоретической и практической значимости, обоснованности выводов соответствует требованиям п.п. 9, 10, 14 установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями от 21.04.2016 №336, с поправками от 01.10.2018г. №1169) и отвечает требованиям ВАК при Минобрнауки РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Ирина Семеновна Рожкова, заслуживает присуждения искомой

ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных (биологические науки).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, доцент,

Профессор кафедры медико-биологических дисциплин

ЧОУВО «СПбМСИ»

(Шифр и наименование специальности официального оппонента:

03.03.01 – физиология)

«15» октября 2022г. М.П. Чернышева Марина Павловна

Подпись М.П. Чернышевой заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета,

к.б.н., доцент, Юшкова Ирина Дмитриевна



Название организации полностью:

Частное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский Медико-социальный институт»

Адрес: г. Санкт-Петербург, Кондратьевский пр., 72, литера А

Телефон: 8(812)448-39-63

E-mail: <https://spark-intefax.ru>