

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Михаила Владимировича Осикова на диссертационную работу Говорушкиной Наталии Станиславовны на тему: «Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.3 - Патологическая физиология

Актуальность избранной темы

Ишемическая болезнь сердца и наиболее важная в медико-социальном плане ее форма инфаркт миокарда, несмотря на проводимые лечебно-профилактические мероприятия, занимают в большинстве стран мира первое место в структуре заболеваемости без тенденции к снижению. ИБС связана со значительными затратами на лечение, ограничением или утратой трудоспособности и снижением качества жизни, высокой смертностью (до 30% ежегодно среди населения России). Снижение коронарного кровотока и острая миокардиальная ишемия лежат в основе первичной альтерации и некроза кардиомиоцитов, а реперфузия парадоксальным образом усугубляет альтерацию и вторично расширяет зону инфаркта миокарда. Ключевыми патогенетическими факторами синдрома ишемии-реперфузии в миокарде выступают избыточная генерация активных форм кислорода и азота, локальный окислительный стресс и связанные с ним деструкция мембран, нарушение энергообеспечения, электролитного баланса, инициация программируемой гибели кардиомиоцитов.

Поиск и патогенетическое обоснование кардиопротективных методик, ограничивающих площадь первичной и вторичной альтерации миокарда, является приоритетной задачей современной патофизиологии и кардиологии. В этом отношении неподдельный интерес вызывает феномен кондиционирования миокарда, впервые описанный Murry С.Е. с соавт. в 1986 г. на сердцах собак как адаптация миокарда к ишемии и уменьшение на 75% площади инфаркта после четырех последовательных 5-минутных эпизодов окклюзии коронарной артерии.

В настоящее время известны ишемические и фармакологические способы preconditionирования, кондиционирования и посткондиционирования.

Ионотропные глутаматные рецепторы N-метил-D-аспартата (NMDA), представленные в том числе в сердце, участвуют в регуляции сосудистого тонуса и коронарного кровотока, электрической активности сердца, гомеостаза Ca^{2+} , энергообеспечения и редокс-статуса в кардиомиоцитах. В последние годы активно изучаются агонисты и антагонисты NMDA-рецепторов, их роль в регуляции церебрального кровотока, функции центральной нервной системы, миокарда в норме и при патологии, в том числе в условиях окислительного стресса. С указанных позиций вполне обоснованной видится поставленная автором цель работы: выявить особенности влияния введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов во время пре- и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.

В связи с вышесказанным актуальность темы диссертационной работы Говорушкиной Наталии Станиславовны «Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии» не вызывает сомнения.

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

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации, обусловлена адекватным дизайном и объемом исследования (90 крыс линии Wistar albino обоего пола, разделенных на 9 групп), комплексным методологическим подходом и соответствующими поставленным задачам современными лабораторными и инструментальными методами исследования и методами статистической обработки полученных данных. Это позволило автору диссертационной работы сформулировать логически обоснованные и вытекающие из полученных результатов выводы и выносимые на защиту положения.

Научные положения и выводы сформулированы на основании полученных результатов диссертационного исследования и основываются на патофизиологическом методе моделирования синдрома ишемии-реперфузии изолированного сердца крыс и оценки кардиодинамических показателей миокарда, коронарного потока и оксидативного стресса в миокарде во время фармакологического пре- и посткондиционирования путем применения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов. Полученные диссертантом результаты свидетельствуют о решении поставленных задач и обоснованности положений, выносимых на защиту. Выводы диссертации являются логическим следствием из результатов исследования и согласуются с сформулированными задачами.

Полученные результаты могут быть успешно внедрены в научную работу кафедр медицинского и биологического профиля. Основные научные положения и выводы диссертации доложены и обсуждены на научно-практических конференциях международного уровня, представлены в трех рецензируемых научных изданиях, в том числе рекомендованном ВАК Минобрнауки России.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Представленный в диссертации объем экспериментального материала достаточен для получения статистически значимых результатов, адекватная статистическая обработка полученных результатов (критерий Манна-Уитни, точный тест Фишера, поправка Бонферрони для множественных сравнений) с использованием статистического пакета SPSS 20.0 для Windows, информативный иллюстративный материал не вызывают сомнений в достоверности полученных результатов.

Научная новизна диссертационного исследования Говорушкиной Наталии Станиславовны не вызывает сомнений. В результате проведенных исследований впервые при моделировании синдрома ишемии-реперфузии в изолированном сердце крысы выполнен анализ результатов введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов до и после ишемии (фармакологическое пре- и посткондиционирование) на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс в миокарде в динамике реперфузии.

Автором впервые показано, снижение кардиодинамических параметров сердца, которое подвергалось двадцатиминутной ишемии с пре- и посткондиционированием агонистами NMDA-рецепторов (глутамат и глицин) и последующей тридцатиминутной реперфузии, и одновременно с этим увеличение показателей оксидативного стресса в миокарде. Впервые обнаружено повышение и восстановление кардиодинамических параметров сердца, которое подвергалось двадцатиминутной ишемии с пре- и посткондиционированием антагонистами NMDA-рецепторов (МК-801 и мемантин) и последующей тридцатиминутной реперфузии, одновременно выявлено снижение показателей оксидативного стресса в миокарде.

Соответствие паспорту научной специальности

Результаты диссертационного исследования соответствуют п.1 паспорта специальности 3.3.3. Патологическая физиология «Исследование особенностей этиологических факторов, вызывающих развитие повреждения, и характера их воздействия на уровне клеток, органы систем организма», п.4 «Анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических процессов».

Содержание и оформление диссертации

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 169 страницах машинописного текста, состоит из введения, разделов: обзор литературы (глава 1), материалы и методы исследования (глава 2), результаты исследования (глава 3), обсуждение, выводы и список литературы, иллюстрирована 20 таблицами, 94 рисунками. Список литературы содержит 199 работ (из них 18 – отечественных и 181 – зарубежных).

Во введении обоснована актуальность и продемонстрирована степень разработанности темы, обозначены цель и задачи, показана научная новизна результатов, теоретическая и практическая значимость работы, описаны личный

вклад автора, апробация результатов на научно-практических международных конференциях, представлено их внедрение. Цель работы сформулирована четко, задачи диссертационного исследования полностью отвечают поставленной цели.

В первой главе («Обзор литературы») представлены современные взгляды по проблеме диссертационного исследования. Чрезвычайно подробно освещены данные зарубежных и отечественных исследователей о роли NMDA-рецепторов в организме (виды и особенности, структура, контроль открытия, аллостерическая регуляция), участии NMDA-рецепторов в регуляции функции центральной нервной системы и сердечно-сосудистой системы. Отдельно обсуждается роль окислительного стресса в организме, в том числе на уровне сердечно-сосудистой системы, а также патофизиологические аспекты ишемического и реперфузионного повреждения миокарда (роль АФК, накопления Ca^{2+} , открытия митохондриальных переходных пор). Представлены данные о феномене и механизмах пре- и посткондиционирования миокарда ишемического генеза и фармакологическое воздействие на цитопротективные пути сигналинга пре- и посткондиционирования.

Глава 2 («Материалы и методы исследования») описывает проведенные эксперименты, дизайн исследования и использованных методов. Дана характеристика методам экспериментальных исследований, выделению сердца, применению модели ретроградной перфузии изолированного сердца по Лангендорфу при постоянном перфузионном давлении в 9 сформированных группах белых крыс линии Wistar albino обоего пола массой 250 ± 30 г. Описаны методы оценки кардиометаболических параметров и коронарного кровотока, показателей свободно-радикального окисления. Для статистической обработки данных автором применены адекватные статистические методы анализа.

Глава 3 («Результаты исследования») представляет собой описание и представление результатов экспериментального исследования на 90 экспериментальных животных. Глава содержит 18 разделов, что обосновано количеством групп и набором методик в исследовании. Подобное разделение позволило детально описать влияние агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов на кардиодинамические параметры и показатели оксидативного

стресса до и после ишемии миокарда (фармакологическое пре- и посткондиционирование) при моделировании синдрома ишемии-реперфузии в изолированном сердце крысы.

Обсуждение диссертации объективно отражает основные положения проведенного исследования, в нем подчеркнуты наиболее важные полученные результаты в сопоставлении с современными данными отечественных и зарубежных исследователей. В завершение автором сформулировано 6 выводов, которые закономерно следуют из полученных результатов исследования, соответствуют цели и задачам работы.

Выводы в количестве полностью вытекают из результатов, полученных автором в ходе работы, они, логичны и четко сформулированы.

Принципиальных возражений основная концепция работы, положения, выносимые на защиту, полученные данные не вызывают. Тем не менее, имеются замечания к оформлению и содержанию основных разделов:

1. Обзор литературы избыточен по объему (40 стр., или 30% от общего объема диссертации без списка литературы), содержит излишнюю детализацию данных о роли NMDA-рецепторов в норме, а не при патологии, прежде всего сердечно-сосудистой системы; список литературы содержит 181 зарубежный источник, а не 183 как указано в автореферате и с. 16 диссертации, из них только 6 источников опубликованы за последние пять лет.
2. В главе 2 при описании «Биохимического анализа» (стр. 64) «Определение индекса перекисного окисления липидов (ИПОЛ-TBARS)» фактически соответствует определению концентрации ТБК-позитивных продуктов в коронарном перфузате; «Определение содержания оксида азота» фактически соответствует суммарному определению нитратов и нитритов как метаболитов оксида азота (II) в реакции Грисса; «Определение содержания супероксидного анион радикала (O_2^-)» фактически соответствует косвенной оценке в целом продуктов кислород-зависимого метаболизма в коронарном перфузате в тривиальном НСТ-тесте.

3. В диссертации использованы (стр. 67) t-критерий Стьюдента, парный t-критерий, однако нет сведений о соответствии выборок нормальному распределению и равенстве дисперсий; указано, что использован дисперсионный анализ, но его результатов в гл. 3 не обнаружено; указано, что использована поправка Бонферрони, однако во всех таблицах $p < 0,05$ даже при наличии множественных сравнений.
4. Текст диссертации содержит ряд опечаток и неточностей: «Самой простой формой свободных радикалов является атом водорода, потому что он имеет только один электрон...» (стр. 39), «абсорбент» вместо адсорбент (стр. 65), использование «СЛВП» и «ДЛВП» как аббревиатуры «систолического и диастолического давления в левом желудочке» (стр. 146), «...пероксидазой из редиса лошади (HorseRadish Peroxidase - HRPO)» вместо пероксидазой хрена (стр. 66) и др.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Говорушкиной Наталии Станиславовны включает общую характеристику работы, описание материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждение, выводы, список работ, опубликованных по теме диссертации, список используемых сокращений. Содержание автореферата полностью соответствует существу основных разделов диссертационной работы и установленным требованиям.

Отмечая в целом высокий уровень выполненного исследования, считаю необходимым в плане научной дискуссии поставить ряд вопросов перед соискателем:

1. Имеются ли отличия в механизме окислительного стресса на первой и тридцатой минутах реперфузии после предварительной ишемии без фармакологического кондиционирования миокарда? Почему при оценке окислительного стресса не определялись компоненты антиокислительной защиты?

2. Может ли окислительный стресс в миокарде, зафиксированный Вами при ишемии-реперфузии, изменять структуру рецепторов N-метил-D-аспартата и как следствие влиять на их функциональную активность?
3. Чем определялся выбор дозы агонистов и антагонистов рецепторов N-метил-D-аспартата как средств фармакологического пре- и посткондиционирования при моделировании ишемии и реперфузии миокарда в изолированном сердце и насколько их эффекты возможно экстраполировать на организм человека?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Говорушкиной Наталии Станиславовны на тему «Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. – Патологическая физиология (медицинские науки) является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной для патологической физиологии задачи по изучению агонистов (глутамата, глицина) и антагонистов (МК-801, мемантина) NMDA-рецепторов как средств фармакологического пре- и посткондиционирования при моделировании ишемии и реперфузии миокарда, что соответствует требованиям п.16 «Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)», утвержденного приказом ректора ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Говорушкина Наталия Станиславовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой патологической физиологии,
ведущий научный сотрудник научно-образовательного центра

«Проблемы фундаментальной медицины»
ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук
(3.3.3. Патологическая физиология,
3.2.7. Аллергология и иммунология),
профессор (по кафедре патологической физиологии)

Осиков Михаил Владимирович



Личный адрес электронной почты: prof.osikov@yandex.ru

Личный телефон +7 919 122 3799

Подпись заверяю:

Юридический адрес:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России)

454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.

Телефон: приемная ректора (351) 232-73-71.

Адрес электронной почты: kanc@chelsma.ru.

Официальный сайт: [http:// www.chelsma.ru](http://www.chelsma.ru).