

«Утверждаю»
Декан биологического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова
академик



М.П.Кирпичников

2016 г.

В Диссертационный совет Д 002.127.01 при
Федеральном государственном бюджетном
учреждении науки Институте эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

**Отзыв официального оппонента Тарасовой Ольги Сергеевны
на диссертационную работу Сухова Ивана Борисовича**

**«Нарушения гормональной регуляции аденилатциклазной системы в мозге крыс с
сахарным диабетом и их коррекция с помощью интраназально вводимых инсулина и
серотонина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.01.04 - Биохимия**

Актуальность проблемы.

Диссертационная работа И.Б.Сухова посвящена изучению биохимических механизмов функциональных сдвигов в нейромедиаторных и пептидергических системах головного мозга при сахарном диабете различного генеза, а также научному обоснованию коррекции таких нарушений путем интраназального введения инсулина или серотонина. Сахарный диабет является одним из наиболее социально значимых заболеваний в современном обществе, он неуклонно наступает и множится, так что, по эпидемиологическим прогнозам, в течение полутора десятков лет доля больных диабетом людей может достичь 7-8%.

Для больных сахарным диабетом характерны снижение когнитивных возможностей и другие проявления неврологического дефицита. Они связаны не только с изменением обменных процессов в инсулин-зависимых тканях организма, но и непосредственно с нарушением сигнального и трофического влияния инсулина в головном мозге. Хотя инсулиновая сигнализация в мозге сходна с таковой в периферических тканях, имеются и существенные отличия. Прежде всего, повышение уровня инсулина не приводит к

инсулиновой резистентности нервной ткани, в связи с чем направленная доставка инсулина в головной мозг (в данной работе – путем интраназального введения) способна сгладить обусловленный диабетом неврологический дефицит.

Кроме инсулиновой системы мозга патологическим изменениям при сахарном диабете подвергаются и другие нейромедиаторные системы, в том числе серотонинергическая, в сферу влияния которой входят такие важные процессы как эмоциональная и двигательная активность, пищевое и репродуктивное поведение и мн. другие. Поскольку содержание серотонина в мозге при сахарном диабете снижается, идея автора о локальной доставке этого регулятора в мозг (также путем интраназального введения) представляется обоснованной.

Итак, в работе И.Б.Сухова изучены биохимические и молекулярно-биологические корреляты негативных изменений неврологического статуса при сахарном диабете 1 и 2 типов и, во многих случаях, выявлена их обратимость при длительном интраназальном применении инсулина или серотонина. Несомненно, данная работа важна для как фундаментальных наук (биохимии, нейрохимии, нейрофизиологии), а также для медицины: (неврологии, клинической эндокринологии, фармакологии и др.). Обоснование механизмов центрального генеза таких заболеваний как сахарный диабет и метаболический синдром может стать научной основой для коррекции диабетических патологий путем неинвазивной доставки инсулина и других регуляторов в головной мозг.

Структура работы.

Диссертационная работа И.Б.Сухова изложена на 176 страницах, построена по традиционному плану и иллюстрирована 16 таблицами и 41 рисунком. Отдельная глава посвящена обсуждению и обобщению полученных результатов. Работу завершает объемный список цитируемой литературы, он включает 253 ссылки.

Автореферат достаточно полно и корректно передает содержание диссертационной работы и оформлен надлежащим образом.

Общая характеристика работы.

Во введении приводится обоснование актуальности проблемы, четко формулируются цель и задачи работы. Обширный обзор данных литературы (43 страницы) вводит читателя в проблему и обозначает «белые пятна», на заполнение которых направлена данная работа. В нем последовательно рассмотрены сигнальные системы головного мозга, входящие в сферу интересов автора: инсулиновая и серотонинергическая, а также тесно связанные с ними дофаминовая и меланокортиновая системы. Обзор написан на основании анализа большого количества литературных источников, среди которых как классические, так и совсем недавно опубликованные работы, характеризующие современный уровень развития проблемы.

Несомненным достоинством работы является использование широкого набора

современных методик. Во-первых, это четыре различные модели сахарного диабета у крыс: две модели диабета 1 типа и две модели диабета 2 типа. Модели тщательно охарактеризованы путем наблюдения за массой тела животных и определения биохимических показателей развития диабета: базальной концентрации глюкозы в крови, ее динамики при нагрузке глюкозой (в отдельности и в сочетании с инсулином), содержания инсулина, липидов и липопротеинов в крови. Для оценки связанного с диабетом когнитивного дефицита автор использовал водный тест Морриса – весьма трудоемкую, но информативную методику. Основная доля исследований выполнена с использованием таких методов как оценка связывания инсулина с мембранами клеток, определение ГТФ-связывания G-белков, активности аденилатциклазы, количественная ПЦР, Вестерн-блоттинг, в том числе, с использованием фосфоспецифических антител. Такие исследования проведены для ткани мозга в целом, ткани гипоталамуса, где формируются жизненно важные потребности организма, в том числе, пищевое поведение, а также для периферических тканей.

И.Б.Суховым получен обширный массив приоритетных данных, тщательно выполнены контрольные эксперименты, проведена грамотная статистическая обработка результатов, а также достаточно полное их обсуждение. На основании достоверных результатов построена логическая схема изменений рецепторных систем и внутриклеточных сигнальных путей головного мозга при сахарном диабете. В работе впервые показано, что в мозге крыс с различными моделями сахарного диабета происходит нарушение функционирования аденилатциклазной сигнальной системы, что проявляется в снижении регуляторных эффектов нейромедиаторов и гормонов, в первую очередь, ингибирующих аденилатциклазу через рецепторы, ассоциированные с G_i-белками. Получены приоритетные данные, что длительное интраназальное введение инсулина крысам с мягким диабетом 1 типа, инсулина или серотонина крысам с неонатальным диабетом 2 типа, серотонина крысам с метаболической моделью диабета 2 типа улучшает функционирование серотониновой, дофаминовой и меланокортиновой систем мозга, положительно влияет на регуляцию активности аденилатциклазной системы головного мозга. Очень важно, что такие нейрорхимические эффекты инсулина и серотонина коррелирует с улучшением способности крыс к обучению и повышением чувствительности периферических тканей к инсулину. Считаю, что диссертационная работа И.Б.Сухова представляет собой целостное и завершенное исследование, характеризующееся научной новизной и практической ценностью.

Публикации по результатам исследований.

Список работ, опубликованных по теме диссертации, поражает своим объемом. Он включает десять статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и

науки Российской Федерации, а также четыре статьи в других изданиях. Четырнадцать представленных тезисов докладов свидетельствуют, что результаты работы И.Б.Сухова неоднократно обсуждались на российских и международных конференциях и симпозиумах.

Замечания. Принципиальных замечаний к работе И.Б.Сухова у меня не возникло. Вместе с тем, порой хотелось бы видеть более подробное обоснование направлений работы, например, используемых доз инсулина и серотонина (почему выбраны именно такие дозы) или же целесообразности использования в экспериментах не только самцов, но и самок крыс (только в силу разной чувствительности к действию диабетогенного агента или же автора интересовали гендерные особенности изменений в мозге при диабете).

Вопросы.

К любой интересной неизбежно возникает много вопросов, но я задам всего два, которые представляются мне важными. Первый из них относится к влиянию интраназально вводимых инсулина и серотонина на биохимические показатели в мозге и на системном уровне у крыс без сахарного диабета. Согласно полученным данным, в ряде случаев такое влияние оказывается противоположным эффектам этих воздействий у крыс с диабетом. Почему это так и как это обстоятельство должно учитываться при рекомендации применения интраназального применения инсулина и серотонина в клинической практике.

Второй вопрос относится к распределению интраназально вводимого серотонина в ткани головного мозга. Действительно, для пептидных соединений (в том числе, инсулина) и мелких молекул экзогенного происхождения довольно хорошо изучены пути транспорта от слизистой оболочки носовой полости в различные структуры головного мозга (это подробно описано в работе и проиллюстрировано рисунком 1.3). Проводил ли кто-нибудь такие исследования для молекул-нейромедиаторов, таких как серотонин? Дело в том, что для эндогенных нейромедиаторных молекул в ткани мозга существуют специфические системы нейронального и экстранейронального захвата, а также энзиматической деградации. Иными словами, может ли при интраназальном введении серотонина значительно повышаться его содержание в достаточно удаленных структурах головного мозга? Нельзя ли предложить альтернативный способ воздействия интраназально вводимого серотонина: его первичное влияние на чувствительные нервные волокна (которые богаты серотониновыми рецепторами) с последующим рефлекторным влиянием на активность нейромедиаторных систем головного мозга?

Заключение.

Считаю, что диссертационная работа И.Б.Сухова является ценной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи выявления регуляторных нарушений при сахарном диабете, понимания их биохимических механизмов и научного

обоснования способов коррекции. Результаты работы важны для развития биологических наук, фундаментальной и клинической медицины. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы.

По методическому уровню, новизне и научно-практической значимости данная работа полностью отвечает требованиям п.9. «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., №842), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Автор работы – Сухов Иван Борисович – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - Биохимия.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры физиологии человека и животных
биологического факультета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
доктор биологических наук

Тарасовой О.С.

26.04.2016



О.С. Тарасова



Адрес: 119234, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет. Тел. +7(495) 939-14-16 (раб.), +7(926)711-52-47 (моб.), адрес электронной почты: ost.msu@gmail.com

Заведующий кафедрой физиологии
человека и животных,
профессор



А.А. Каменский

Ученый секретарь биологического
факультета МГУ



Е.В. Петрова