

УТВЕРЖДАЮ

Ректор учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»

С.П. Рубникович
2022 г.



ОТЗЫВ

оппонирующей организации учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» на диссертационную работу

ШАДЕНКО Виктории Николаевны

«Лабильность пептидергических нейронов центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.03.01 – физиология

В соответствии с п.п. 41-42 главы 6 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17 ноября 2004 №560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 2 июня 2022 №190), пунктами 44-46 Положения о совете по защите диссертаций, утвержденного постановлением ВАК Республики Беларусь от 22 февраля 2005 №19 (с изменениями и дополнениями), приказом ректора учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (далее – БГМУ) от 24.11.2022 №967, на основании письма совета по защите диссертаций К 01.36.01 при государственном научном учреждении «Институт физиологии Национальной академии наук Беларусь» от 04.11.2022 №301-01-01/507 проведено научное собрание сотрудников кафедр: общей химии, биологии, биоорганической химии, биологической химии, нормальной физиологии, патологической физиологии, научно-исследовательской части 02.12.2022 (протокол №1) по обсуждению диссертационной работы Шаденко Виктории Николаевны «Лабильность пептидергических нейронов центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии».

Председатель: Хрусталёв Владислав Викторович, заведующий кафедрой общей химии БГМУ, доктор биологических наук, доцент.

Эксперт: Сперанская Елена Чеславовна, доцент кафедры общей химии БГМУ, кандидат биологических наук, доцент.

Секретарь: Контиява Ольга Викторовна, доцент кафедры общей химии БГМУ, кандидат химических наук.

На заседании присутствовало 22 человека, из них 2 доктора наук (2 д.б.н.), 15 кандидатов наук (8 к.б.н., 2 к.х.н., 5 к.м.н.), 5 человек без степени: заведующий кафедрой общей химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», д.б.н., доцент Хрусталёв В.В., заведующий кафедрой биологии БГМУ, к.б.н., доцент Давыдов В.В., доцент кафедры общей химии БГМУ, к.б.н., доцент Сперанская Е.Ч., доцент кафедры общей химии БГМУ, к.х.н. Контиява О.В., доцент кафедры общей химии БГМУ, к.х.н., доцент Петрушенко Л.Г., доцент кафедры общей химии БГМУ, к.б.н., доцент Ачинович О.В., доцент кафедры общей химии БГМУ, к.м.н., доцент Латушко Т.В., доцент кафедры биологической химии БГМУ, к.б.н., доцент Барабанова Е.М., доцент кафедры биологической химии БГМУ, к.б.н., доцент Колб А.В., доцент кафедры биологии УО «БГМУ», к.б.н., доцент Мезен Н.И., доцент кафедры нормальной физиологии БГМУ, к.м.н., доцент Власенко В.И., доцент кафедры нормальной физиологии БГМУ, к.м.н., доцент Александров Д.А., доцент кафедры нормальной физиологии БГМУ, к.м.н., доцент Северина Т.Г. доцент кафедры патологической физиологии БГМУ, к.м.н., доцент Чантурия А.В., доцент кафедры патологической физиологии БГМУ, к.б.н., доцент Жадан С.А., старший преподаватель кафедры общей химии БГМУ Юзефович О.Н., ассистент кафедры общей химии БГМУ Клышко И.А., ассистент кафедры общей химии БГМУ Акуневич А.А., ассистент кафедры общей химии БГМУ Барченко С.В., ассистент кафедры общей химии БГМУ Побойнев В.В., профессор кафедры физиологии человека и животных БГУ, д.б.н., профессор Сидоров А.В.

Диссертационная работа Шаденко Виктории Николаевны «Лабильность пептидергических нейронов центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии» посвящена решению актуальной задачи нейробиологии с использованием методов электрофизиологии и биохимии. При этом такое комплексное исследование раскрывает общие физиологические закономерности и приносит методологические результаты, которые представляют интерес для развития экспериментальной медицины.

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки, по которой она представлена к защите

Диссертационная работа, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует отрасли – биологические науки и паспорту специальности 03.03.01 – физиология, утвержденному приказом Высшей аттестационной комиссии № 64 от 6 марта 2018 г., пункту 1 (механизмы регуляции функций организма человека и животных), пункту 2 (контроль гомеостазиса), пункту

22 (физиология нервной системы), и в наибольшей степени пункту 16 (экспериментальный анализ закономерностей протекания физиологических процессов).

Проведенные соискателем исследования относятся к отрасли биологических наук, так как имеют фундаментальный, а не прикладной характер, не касаются физиологии животных, имеющих ценность для сельского хозяйства (согласно паспорту специальности 03.03.01 – физиология).

Диссертация выполнена в рамках задания «Мембранные механизмы возрастных изменений нейронов разной эргичности» государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине», 2016–2018 гг., № ГР 20161315, и задания «Разработка и создание учебно-методического комплекса по нейробиологии» государственной программы научных исследований «Конвергенция-2020», 2016–2020 гг., № ГР 20161893.

Тема исследования соответствует приоритетным направлениям научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы (утверждены постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015, № 190) – «4. Медицина и фармация» и «12. Междисциплинарные исследования», а также подпункту «Системная и синтетическая биология» п.2 приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы (Указ Президента Республики Беларусь от 7 мая 2020 г. № 156).

Вклад соискателя в разработку научной задачи с оценкой его значимости

Научная задача, поставленная в данной работе, заключалась в доказательстве способности нейронов, не включённых в состав пищевой сети, реагировать на повышение уровня глюкозы в межклеточном пространстве. Эта задача является составляющей гораздо более широкой проблемы оценки границ глюкозочувствительности органов, тканей и отдельных типов клеток. В данной работе в качестве модельного организма был выбран *Lymnaea stagnalis*, так как его гигантские нейроны в гораздо большей степени доступны для проведения экспериментальных исследований, чем у других животных.

Соискателю удалось не только проверить, реагируют ли выделенные из центральной нервной системы нейроны на повышение содержания глюкозы в окружающей их среде, что само по себе является достижением, но и оценить влияние увеличения концентрации глюкозы в гемолимфе на поведение животных, что добавляет работе определённый эволюционный аспект. После употребления достаточного количества богатой углеводами пищи прудовик впадает в специфическое физиологически детерминированное состояние, в котором угнетаются его оборонительные рефлексы, что, по всей видимости, имеет значение для их успешного роста и размножения.

Значимость полученных результатов по изучению состояния системы антиоксидантной защиты нейронов *Lymnaea stagnalis* после погружения их в раствор

10 мМ глюкозы заключается в подтверждении справедливости гипотезы о специфическом ответе на повышение уровня глюкозы со стороны нервных клеток.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

Проведенные соискателем исследования отличаются научной новизной, так как в них впервые установлены новые факты, перечисленные ниже.

1) Физиологические механизмы поддержания гомеостаза в организме *Lymnaea stagnalis* препятствуют повышению уровня глюкозы в его органах в условиях экспериментальной гипергликемии, приводящей к 5–10 кратному увеличению её содержания в гемолимфе *Lymnaea stagnalis*. При этом ЧСС моллюска увеличивается, а поведение его достоверно изменяется: увеличивается втянутость тела животного в раковину, ослабляются ответы на тактильную стимуляцию кожи.

2) На экспериментальную гипергликемию реагируют строго определённые нейроны *Lymnaea stagnalis*: пептидергические кардиорегуляторные нейроны RPaD1 (появляются синаптические потенциалы на мембране, увеличивается частота генерации потенциала действия) и VD1/RPaD2 (усиливается частота импульсации, удлиняются фазы деполяризации и следовой гиперполяризации), а также серотонинсодержащие клетки LPeD1 локомоторной сети (снижается частота импульсации).

3) Экспериментальная гипергликемия не оказывает существенного влияния на концентрацию активных форм кислорода и состояние системы антиоксидантной защиты в цитоплазме нейронов *Lymnaea stagnalis* в течение первых двух часов. Реакция нейронов на экспериментальную гликемию является отсроченной: лишь спустя сутки настаёт 1,5-кратное увеличение содержания восстановленного глутатиона и активности супероксиддисмутазы на фоне 1,3-кратного снижения количества общего белка.

Таким образом, в ходе исследования были получены уникальные результаты, ранее не опубликованные другими авторами. Уровень научной новизны достаточен для присуждения искомой степени кандидата биологических наук Шаденко Виктории Николаевне.

Результаты, которые могут найти практическое применение и конкретные рекомендации по их использованию

Практическое применение результаты работы могут найти не только в учебном процессе, как указывает соискатель, но и в дальнейших научно-практических изысканиях. *Lymnaea stagnalis* может рассматриваться как модельное животное для проведения экспериментов, целью которых является установление механизма действия глюкозы как метаболического сигнала, так же, как и любых других веществ, обладающих биологической активностью. Способ введения этих веществ в организм *Lymnaea stagnalis*, предложенный в данной работе, отличается оригинальностью и

неинвазивностью: животное просто погружается в водный раствор с определённой концентрацией исследуемого вещества.

Согласно полученным результатам, система антиокислительной защиты центральной нервной системы *Lymnaea stagnalis* достаточно развита, чтобы позволить изучить именно специфический ответ на попавшие в гемолимфу вещества, а не неспецифическую реакцию.

Отработанная методика выделения определённых нейронов прудовика и оценки их электрофизиологических параметров представляет особую ценность для дальнейших разработок по моделированию нейродегенеративных процессов (в том числе болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона).

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Соискатель Шаденко Виктория Николаевна представила к защите законченное диссертационное исследование, так как цель работы достигнута, выполнены все поставленные задачи. Высокий уровень диссертационной работы подтверждается использованием разноплановых методов экспериментальных исследований: физиологических (для изучения поведения моллюсков, для регистрации электрической активности нервных клеток), биохимических (для определения концентрации глюкозы в гемолимфе и тканях глюкозооксидазным методом, многокомпонентного анализа состояния антиокислительной защиты в нервных ганглиях). Соискатель овладела методами определения активности супероксиддисмутазы, Se-зависимой глутатионпероксидазы, концентрации восстановленного глутатиона и общего белка, оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

По материалам диссертации опубликовано 24 работы: 6 статей в журналах из перечня ВАК Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований, 2 – в международных изданиях, статьи и тезисы в материалах конференций. В материалах научных статей и тезисов, опубликованных в соавторстве, личный вклад соискателя составил от 60 до 90%. Тематика опубликованных работ соответствует основным положениям, выносимым на защиту. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Таким образом, на основании тщательного анализа диссертационной работы Шаденко В.Н. «Лабильность пептидергических нейронов центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии» и автореферата, с учетом объема выполненных исследований, адекватного выполнения поставленной цели и решения задач, представленного научного доклада и ответов на вопросы, можно считать, что научная квалификация соискателя Шаденко Виктории Николаевны соответствует ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Вопросы

1. Насколько эксперимент с погружением *Lymnaea stagnalis* в раствор 10 мМ или 100 мМ глюкозы воспроизводит ситуацию, с которой этот моллюск может столкнуться в своей жизни? Достижимы ли такие концентрации глюкозы в гемолимфе и интерстиции?

2. Чем можно объяснить существенный разброс данных по концентрации глюкозы в гемолимфе после одного и того же эксперимента (погружение в 100 мМ раствор глюкозы) в разных группах прудовиков? В 9 раз ($n = 12$, стр. 50) и в 7,6 раз ($n=13$, стр. 47).

3. В диссертации употребляется термин «нормальный физиологический раствор Рингера» (стр. 37, стр. 82). Известно, что раствор Рингера содержит: катионы натрия (Na^+) 147,00 ммоль/л, катионы калия (K^+) 4,00 ммоль/л, катионы кальция (Ca^{2+}) 2,25 ммоль/л, хлорид-ионы (Cl^-) 155,60 ммоль/л. На стр. 37 диссертации указан существенно отличающийся состав раствора: $\text{NaCl} - 44$ ммоль/л; $\text{KCl} - 1,7$ ммоль/л; $\text{CaCl}_2 - 4$ ммоль/л; $\text{MgCl}_2 - 1,5$ ммоль/л; HEPES – 10 ммоль/л. Можно ли считать такой раствор «нормальным» и «физиологическим» для прудовика?

4. На стр. 35 диссертации отмечено, что длину щупальцев и участка тела *Lymnaea stagnalis*, не прикрытого раковиной, регистрировали с помощью измерителя и линейки, не касаясь при этом тела моллюска. Хочется уточнить, насколько велика погрешность таких измерений и оказывала ли влияние на оборонительное поведение моллюска сама попытка измерения его размеров?

Замечания

1. В диссертации на некоторых диаграммах (Рисунки 3.1, 3.4, 4.7б, 4.10, 4.11, 4.12б, 4.15, 4.16, 5.2б, 5.3а, 5.3б, 5.3в) данные представлены в виде столбчатых диаграмм, хотя достоверность различий между показателями установлена с помощью непараметрических методов, при работе с которыми традиционно используются «бокс-плоты».

2. Описание материалов и методов в автореферате диссертации кажется избыточным: почти 4 страницы против 6 страниц с собственными результатами.

3. В работе используется неудачное выражение «оценка накопления активных форм кислорода».

4. Название диссертации «Лабильность пептидергических нейронов...» не полностью отражает содержание работы, так как касается собственных результатов, изложенных преимущественно в главе 4, а также главы 6, которую следует считать своеобразной дискуссией. При этом глава 3 посвящена поведенческим реакциям прудовика на экспериментальную гликемию и вызванным ей изменениям концентрации глюкозы в гемолимфе и некоторых органах моллюска, а глава 5 – антиоксидантной системе «в органах и тканях» моллюска.

Сделанные замечания носят частный характер, относятся главным образом, к техническим недочетам, к неточности в терминологии и к неудачным выражениям, не затрагивают сути работы, не влияют на научно-практическую значимость диссертации.

По содержанию представленного материала, данным исследования, адекватности использованных подходов и методов, структуре работы и стилю изложения, содержанию выводов и положений, выносимых на защиту, замечания отсутствуют.

В соответствии с п. 42 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17 ноября 2004 г. №560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 6 июня 2022 г. №190) научное собрание, заслушав доклад соискателя ученой степени кандидата биологических наук В.Н. Шаденко, ответы на вопросы, выводы эксперта, приняло следующее заключение.

Заключение

Диссертационная работа Шаденко Виктории Николаевны «Лабильность пептидергических нейронов центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии» является законченным квалификационным исследованием. По уровню научной новизны и значимости полученных результатов диссертационная работа отвечает требованиям ВАК Республики Беларусь, а **Шаденко Виктория Николаевна** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология за:

1. Доказательство справедливости предложенной модели создания экспериментальной гипергликемии путём инкубации животных в высококонцентрированном растворе глюкозы, сопровождающейся многократным возрастанием уровня глюкозы в гемолимфе при неизменности её содержания в других органах моллюска.
2. Доказательство влияния экспериментальной гипергликемии на работу сердца моллюска и на выраженность его оборонительного поведения.
3. Выявление конкретных пептидергических нейронов (RPaD1, VD1/RPaD2) нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*, наиболее чувствительных к повышению уровня глюкозы в окружающей их среде.
4. Установление особенностей развития реакции на резкое, многократное возрастание содержания глюкозы в интерстиции со стороны системы антиоксидантной защиты в цитоплазме клеток нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*: отсутствие нарастания концентрации активных форм кислорода в первые часы и модификация редокс-равновесия через сутки.

На научном собрании Шаденко В.Н. выступила с докладом, состоялась дискуссия, соискатель ответил на все поставленные вопросы.

Отзыв обсужден и одобрен на научном собрании сотрудников кафедр общей химии, биологии, биоорганической химии, биологической химии, нормальной физиологии, патологической физиологии, научно-исследовательской части учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол от 02.12.2022 №1). На основании устного доклада соискателя, обсуждения диссертации и заключения эксперта отзыв одобрен открытым голосованием единогласно. В голосовании принимали участие лица, имеющие ученую степень, при этом научный

руководитель соискателя д.б.н., профессор Сидоров А.В. участие в голосовании не принимал.

Результаты голосования: «за» – 16 человек, «против» – нет, «воздержавшихся» – нет.

Председатель научного собрания:

заведующий кафедрой общей химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», доктор биологических наук, доцент

Б.В. Хрусталёв

Эксперт:

доцент кафедры общей химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кандидат биологических наук, доцент

Е.Ч. Сперанская

Секретарь:

доцент кафедры общей химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кандидат химических наук

О.В. Контьява

В.В.Хрусталёва, Е.Ч.Сперанская,

Подпись О.В.Контьява заверяю

Начальник отдела кадров
Белорусского государственного
медицинского университета

