

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Таныгиной Е.С.

«ВОЗДЕЙСТВИЕ БИГУАНИДИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ ПРИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия

Актуальность темы представленной диссертационной работы не вызывает сомнений, так как, распространенность и тяжесть сердечно-сосудистых заболеваний заставляют искать пути коррекции метаболических нарушений, сопровождающих данное заболевание. В настоящее время известно, что одну из ведущих ролей в патогенезе широкого спектра заболеваний, в том числе и сердечно-сосудистой природы, играет усиление свободнорадикальных процессов. Поэтому актуальной проблемой является поиск средств, способных повышать резистентность организма к повреждающему действию свободных радикалов при сердечно-сосудистой патологии различной этиологии. Исходя из этого, был проведен поиск бигуанидиновых производных с целевой биологической активностью с помощью программы прогноза «структура-свойство» PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). В результате были отобраны бигуаниды: 3,5-дикарбометоксифенилбигуанид и 2,4-диметоксифенилбигуанид с предполагаемым спектром биологической активности, а именно кардиопротекторной и противоишемической. В работе предпринята попытка исследовать воздействие бигуанидиновых производных на активность компонентов системы антиоксидантной защиты и ряда ферментов окислительного метаболизма в условиях интенсификации свободнорадикального окисления при сердечно-сосудистых нарушениях в эксперименте на животных. Теоретическая значимость проведенного

исследования состоит в том, что выяснение механизмов регуляции интенсивности свободнорадикального окисления при патологических состояниях и поиск способов коррекции этих процессов позволяет найти оптимальные пути решения ряда фундаментальных и прикладных биологических и медицинских проблем.

Автором впервые проведено комплексное исследование влияния бигуанидиновых производных на показатели цитолиза ткани миокарда, интенсивность процессов свободнорадикального окисления, фрагментацию ДНК, активность ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы, а также ферментов окислительного метаболизма при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием ревматоидного артрита, что является несомненным достоинством работы. Таныгиной Е.С. показано, что при введении производных бигуанида на фоне развития сердечно-сосудистой патологии происходит изменение большинства анализируемых параметров в направлении контроля. Данные, полученные диссертантом, были обобщены в виде гипотетической схемы влияния бигуанидиновых производных на свободнорадикальный гомеостаз организма при кардиоваскулярной патологии.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в расширении и углублении представлений о совокупности процессов, обеспечивающих контроль и регуляцию выработки активных форм кислорода и поиска оптимальных путей их коррекции при сердечно-сосудистых нарушениях. Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о возможности реализации кардиопротекторного и антиоксидантного действия бигуанидиновых производных в условиях усиления свободнорадикального окисления при кардиоваскулярной патологии, что может быть использовано в разработке комплексных препаратов для терапии заболеваний, связанных с генерацией свободных радикалов при исследуемых патологических процессах. Таким образом, данные, полученные в настоящем исследовании, в дальнейшем, могут

служить основой для разработки новых способов профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Результаты проведенных исследований могут быть использованы и при чтении лекционных курсов по общим и специальным дисциплинам на биологическом и фармацевтическом факультетах Воронежского госуниверситета, а также при проведении практических занятий, выполнении курсовых и выпускных квалификационных работ, магистерских диссертаций.

Структура диссертации стандартна для работ подобного рода. Работа написана на 253 страницах текста. В диссертации представлены: введение, литературный обзор, глава, содержащая описание объекта и методов исследования, главы 3-4, содержащие полученные результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы (389 источника). Иллюстративный материал включает 3 схемы, 8 таблиц и 37 рисунков, а также 16 рисунков в Приложении.

В диссертационной работе представлен достаточно обстоятельный литературный обзор, в котором обобщаются данные об участии активных форм кислорода в протекании физиолого-биохимических процессов в живых организмах в норме и при патологии, дана характеристика ферментов и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы, рассмотрены особенности генерации активных форм кислорода в патологических состояниях, приведены сведения о спектре биологической активности гуанидиновых производных и возможности их применения при сердечно-сосудистых нарушениях. Обзор литературы включает данные большого числа как отечественных, так и зарубежных источников.

Экспериментальная часть работы выполнена на хорошем научно-методическом уровне с использованием современных биохимических методов. Все методы подробно описаны во 2-ой главе и могут быть легко воспроизведены. Исследование интенсивности свободнорадикальных процессов проводилось методами биохемилюминесценции и спектрофотометрии. Также с помощью методов спектрофотометрии

определяли активность маркерных ферментов поражения миокарда в сыворотке крови крыс, что позволяет оценить степень цитолиза кардиомиоцитов при кардиоваскулярных нарушениях. Степень фрагментации ДНК, как показателя развития апоптоза, анализировалась методом электрофореза. Определялась как интегральная активность антиоксидантной системы организма методом биохемилюминесценции, так и активность ферментов антиоксидантной защиты и концентрации низкомолекулярных антиоксидантов, оцениваемых спектрофотометрически. Результаты экспериментальной работы подвергались математической обработке с использованием статистического критерия Стьюдента.

В главе 3 приведены критерии отбора производных бигуанида, результаты определения влияния бигуанидиновых производных на ферменты-маркеры цитолиза кардиомиоцитов в сыворотке крови крыс при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина. Кроме того, предоставлены данные о воздействии 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида при сердечно-сосудистых нарушениях, индуцированных введением адреналина, на интенсивность свободнорадикального окисления, степень фрагментации ДНК, активность антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы), содержание низкомолекулярных антиоксидантов (глутатиона, цитрата), а также активность ферментов окислительного метаболизма (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, НАДФ-изоцитратдегидрогеназы, аконитатгидратазы) в ткани сердца и сыворотке крови крыс. Согласно полученным диссертантом результатам, большинство исследуемых показателей, отражающих свободнорадикальный гомеостаз, при введении производных бигуанида животным с патологией изменяются в сторону контрольных значений.

В главе 4 приводятся данные о воздействии бигуанидиновых производных на ферменты-маркеры цитолиза кардиомиоцитов и маркерные

показатели развития ревматоидного артрита в сыворотке крови крыс при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением полного адьюванта Фрейнда. Кроме того, предоставлены данные о влиянии 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида при сердечно-сосудистых нарушениях, развивающихся на фоне ревматоидного артрита, на интенсивность свободнорадикального окисления, уровень фрагментации ДНК и степень мобилизации ряда ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы.

Материалы, представленные в этих главах, достаточно объемны.

В заключении диссертант приводит гипотетическую схему, отражающую возможное участие бигуанидиновых производных в регуляции свободнорадикального гомеостаза при кардиоваскулярной патологии.

Полученные в данной работе результаты могут быть интересны с точки зрения обобщения и систематизации представлений о сопряжении функционирования отдельных компонентов антиоксидантной системы и ферментов клеточного метаболизма, функционирование которых может также иметь значение для регуляции уровня свободных радикалов при патологиях, сопровождающихся окислительным стрессом, и действии веществ-протекторов с антиоксидантными свойствами.

Автореферат и опубликованные по теме диссертации научные работы соответствуют содержанию диссертации.

В то же время работа не лишена и некоторых недостатков:

1. В работе представлены результаты по воздействию исследуемых протекторов на содержание таких низкомолекулярных антиоксидантов, как восстановленный глутатион и цитрат, но в то же время остался не освещенным вопрос о влиянии тестируемых соединений на уровень α -токоферолла и аскорбиновой кислоты.

2. Результаты проведенной оценки степени фрагментации ДНК не нашли свое отражение на гипотетической схеме, представленной автором, в

частности, не отражен процесс повреждения нуклеиновых кислот и апоптотической гибели клеток.

3. В диссертационной работе представлены данные по влиянию тестируемых веществ на активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы, на содержание восстановленного глутатиона при кардиоваскулярной патологии, и в то же время остался не исследованным уровень окисленного глутатиона в условиях эксперимента.

Однако, несмотря на замечания, работа представляется новой, интересной, проведенной на высоком методическом уровне. Выводы, сделанные автором, подкреплены обширным экспериментальным материалом.

В целом диссертация представляет собой завершённое научное исследование, вносящее существенный вклад в решение проблемы изучения основ развития кардиоваскулярной патологии различной этиологии и путей коррекции патологических состояний. Работа полностью отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присвоения ему степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – биохимия.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории физико-химии биомембран
биологического факультета
ФГБОУ ВО «Московского государственного
университета им. М.В. Ломоносова»
д.б.н., профессор
Адрес: Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы,
д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ
Тел: 8(495)939-22-60

8(495)939-27-33
e-mail: kotelevtsev@yandex.ru

Котелевцев С.В.

ПОДПИСАНО
ЗАВЕРШЕНО

Руки Котелевцева С.В.

29.09.2015г