

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Веревкина Алексея Николаевича «Регуляция свободнорадикального гомеостаза в тканях крыс при оксидативном стрессе, индуцированном развитием сахарного диабета 2 типа и ревматоидного артрита, воздействием мелатонин-корректирующих препаратов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Актуальность выбранной темы

Диссертационная работа А.Н. Веревкина посвящена исследованию молекулярных механизмов таких распространенных заболеваний как инсулин-независимый сахарный диабет (СД) и ревматоидный артрит и поиску возможных мишеней для разработки фармакологической коррекции этих с традиций. В настоящее время СД занимает третье место среди причин высокой инвалидизации и смертности больных после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Заболеваемость СД непрерывно растет. Каждые 12—15 лет число больных диабетом в среднем удваивается. Общее количество больных ревматоидным артритом (РА) в Российской Федерации может превышать один миллион (Мясоедова СЕ, Лесняк ОМ, Меньшикова ЛВ. Распространенность ревматоидного артрита в России. Терапевтический архив. 2010;82(5):9–14.). Можно заключить, что выше указанные патологии занимают значительное место в структуре общей заболеваемости населения во всем мире, в том числе и России. Они приводят к ранней инвалидизации и потере трудоспособности. Очевидно, что выявление и разработка молекулярных мишеней для фармакологической регуляции отдельных звеньев патогенеза этих заболеваний представляет большой практический интерес.

Развитие окислительного стресса при СД и РА, в настоящее время рассматривается как важнейшее звено патогенеза ряда страданий. Более того

предполагается, что именно окислительный стресс приводит к повреждению клеточных структур, активирует апоптоз и аутофагии.

Имеются сведения, что гормон шишковидной железы – мелатонин обладает антиоксидантной активностью, превосходящей по силе классические антиоксиданты (D.X.Tan et al., 2003; R.J.Reiter et al. 2007). Кроме того, короткий период полураспада и отсутствие токсичности в широком диапазоне доз делает весьма перспективным использование веществ на его основе в терапии указанных состояний. В связи с этим исследование воздействия эпифамина, мелаксена и вальдоксана – веществ обладающих мелатонинергической активностью, на интенсивность свободнорадикальных процессов и активность антиоксидантной системы является весьма актуальной задачей.

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

Диссертационная работа А.Н.Веревкина изложена на 221 странице печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения полученных результатов, выводов, списка цитированной литературы, включающего 256 наименований. Работа написана четким и ясным языком, хорошо структурирована и содержит все необходимые для понимания материала рисунки и таблицы.

Во введении диссертантом показана актуальность темы исследования, сформулирована цель работы, обозначены научная новизна и практическая значимость. В диссертации представлен подробный литературный обзор исследуемых патологий и роли АФК в развитии данных состояний. Дается описание исследуемых веществ и спектр их активности. Во 2 главе описаны используемые модели и методы. **Из текста, к сожалению, невозможно понять как контролировалось извлечение действующих субстанций из лекарственных форм, содержащих большое количество (до 10) вспомогательных веществ.**

Результаты исследования и их обсуждение представлено в главах 3 и 4.

В главе 3 отражены результаты воздействия мелаксена, вальдоксана и эпифамина на свободнорадикальный гомеостаз тканей крыс с сахарным диабетом 2 типа. Автором выявлены оптимальные дозы исследуемых мелатонин-корректирующих препаратов, их воздействие на уровень глюкозы, интенсивность свободнорадикальных и апоптотических процессов, а также активность антиоксидантной системы. В заключительном разделе данной главы представлены результаты молекулярно-биологических исследований, указывающие на способность мелаксена, эпифамина и вальдоксана влиять на уровень транскриптов антиоксидантных ферментов, изменяя его в направлении контрольных значений.

Четвертая глава посвящена исследованию воздействия мелатонин-корректирующих препаратов на маркерные показатели развития ревматоидного артрита, интенсивность свободнорадикального окисления биомолекул, уровень апоптоза, активность ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы и уровень транскриптов антиоксидантных ферментов.

В библиографическом списке приведено достаточно большое количество современных первоисточников.

Научные положения и выводы, сформулированные при обсуждении полученных результатов, теоретически обоснованы и подтверждаются масштабностью проведенных автором исследований.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и практических рекомендаций.

В научном отношении диссертационное исследование А.Н.Веревкина отличается новизной решения поставленной задачи. Достоверность экспериментальных результатов подтверждается выполнением работы с использованием современных методов. Полученные экспериментальные данные согласуются с данными, приведенными в литературе.

Особо следует отметить блестящие навыки практической работы, продемонстрированные соискателем. Об этом свидетельствуют результаты,

включенные в диссертацию, а именно при электрофорезе образцов ДНК из клеток печени, почек и сердца крыс контрольной группы автору удалось получить только одну полосу (рис.3 диссертации), что говорит об идеально проведенном преаналитическом этапе или среднее квадратичное отклонение в уровне глюкозы при моделировании сахарного диабета (Табл.4, диссертация), которое составляло около 5% от средней величины в группе, то есть при учете биологической внутригрупповой вариабельности этого показателя 3-4%, автору несомненно удалось добиться максимально высокого качества измерений.

Новизна полученных результатов заключается в том, что проведена комплексная оценка влияния мелатонин-корректирующих препаратов на свободнорадикальные процессы при развитии СД и РА.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность, подтверждение публикаций автора.

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.04 - биохимия, это завершенный научный труд, выполненный на высоком уровне, имеющий важное фундаментальное значение, оформленный в соответствии с требованиями, предъявляемыми к кандидатской диссертации. Полученные автором результаты не вызывают сомнения и отражены в 25 публикациях, в том числе 3 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Автореферат и публикации в полной мере отражают основное содержание диссертации.

Замечания по диссертации и автореферату.

Принципиальных недостатков в представленной работе нет. Вместе с тем по диссертации и автореферату можно сделать несколько замечаний:

1. Достаточно спорным моментом представляется использование в работе для проверки достоверности изменений критерия Стьюдента. В некоторых сериях количество групп животных достигает 13, то есть речь идет о множественных сравнениях при которых рекомендуется ис-

пользовать на первом этапе дисперсионный анализ, а на втором либо поправку Холмса-Бонферони, либо критерий Даннета.

2. Автором выбрана достаточно редкая экспериментальная модель сахарного диабета 2 типа. Диабет, индуцированный протамин-сульфатом. Хотелось бы услышать ответ на вопрос: Каков механизм инсулинорезистентности на этой модели? Не кажется ли Вам, что доказательства развития сахарного диабета именно 2 типа в работе А.М. Ульянова и Ю.А. Тарасова (2000) явно недостаточны? Конечно с одной стороны хорошо известен липолитический эффект гепарина, а, следовательно, в связи с диацилглицероловой теорией инсулинорезистентности гепарин ее усиливает, а связывающий его протамин по-видимому должен ее уменьшать (V.T.Samuel et al.,2013; doi: 10.1016/S0140-6736(10)60408-4) и в принципе оказывать благоприятное действие, вероятно поэтому в пролонгированные препараты инсулина во всем мире принято добавлять протамин.

3. В вашей работе был показан антидиабетический эффект Вальдоксана. Как следует из описания этого антидепрессанта, он стимулирует мелатониновые (MT1 и MT2) и блокирует серотониновые (5-HT2C) рецепторы. Последние рецепторы расположены на бета клетках поджелудочной железы, при их стимуляции высвобождается инсулин, а их блокада (например SB242084 Q.Zhang et al. Serotonin Receptor 2C and Insulin Secretion, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0054250) предотвращала его высвобождение. Не могли бы Вы пояснить, если уровень инсулина не повышается, то благодаря какому механизму происходит снижение уровня глюкозы в крови? И следует ли отсюда, что в эффекты исследованных Вами 2-х фармпрепаратов и пищевой добавки следует объяснять некими рецепторными взаимодействиями, а не влиянием на окислительный стресс, который вероятно носит вторичный характер.

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней.

Указанные замечания не влияют на общую высокую оценку работы. В целом, диссертационная работа представляет собой завершённое научное исследование, имеет научную и практическую ценность. Полученные автором результаты вносят существенный вклад в решение проблемы изучения путей коррекции патологических состояний, сопряженных с развитием окислительного стресса.

Таким образом, диссертационная работа Веревкина Алексея Николаевича «Регуляция свободнорадикального гомеостаза в тканях крыс при оксидативном стрессе, индуцированном развитием сахарного диабета 2 типа и ревматоидного артрита, воздействием мелатонин-корректирующих препаратов» является научно-квалификационной работой, по актуальности, научной новизне, практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Заведующий кафедрой теоретической биохимии с курсом клинической биохимии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ, д.м.н., профессор
400131.г.Волгоград, Пл.Павших борцов,1
Mob: +79272518317

e-mail: ol.ostr@gmail.com

<http://www.volgmed.ru/ru/depts/list/81/>

**Подпись доктора медицинских наук, профессора
Островского Олега Владимировича «ЗАВЕРЯЮ»:**
Ученый секретарь ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава
РФ, Д.м.н. профессор

01.11.2016

О.В.Островский



А.А.Воробьев