

Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

11.10.2016 № 12307-2143 - 922

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора Федерального исследовательского
центра «Фундаментальные основы биотехнологии»

Российской академии наук,
доктор химических наук, профессор

Б.Б. Дзантиев

Октябрь 2016 года

ОТЗЫВ

о научно-практической значимости диссертации 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

В современной биохимии одним из принципиально важных направлений исследований является изучение механизмов, обеспечивающих свободнорадикальный гомеостаз в тканях и процессы, ведущие к оксидативному стрессу при разных формах патологии. В частности, накоплены разнообразные данные, которые свидетельствуют о том, что в основе патогенеза сахарного диабета 2 типа (СД2) и ревматоидного артрита (РА), лежат нарушения баланса между скоростью образования активных форм кислорода и интенсивностью функционирования антиоксидантной системы организма. В подобных условиях накопление свободных радикалов и увеличение скорости процессов свободнорадикального окисления биомолекул может приводить к повреждениям клеточных структур, разнообразным нарушениям метаболических процессов и, в конечном счете, к гибели клеток. По имеющимся данным развивающийся при СД2 и РА оксидативный стресс часто ведет к снижению работоспособности и возникновению грозных осложнений с

последующей инвалидизацией. В настоящее время эта весьма актуальная проблематика находит отражение в большом количестве экспериментальных работ и обзоров, например Domingueti C.P. et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *J Diabetes Complications*. 2016 May-Jun;30(4):738-745.

Известно, что гормон мелатонин является одним из эндогенных антиоксидантов с широким спектром действия, который способен активировать некоторые цитопротекторные ферменты. Естественно, что в связи с этим активно ведутся поиски и изучение на модельных системах протекторного действия различных родственных веществ, способных выступать перехватчиками свободных радикалов и/или влиять на активность антиоксидантных систем. К таким протекторам могут быть отнесены эпифамин, мелаксен и вальдоксан. Существуют данные о том, что они способны оказывать опосредованное воздействие на антиоксидантную систему и свободнорадикальные процессы путем коррекции содержания и эффективности действия мелатонина. Однако многие аспекты действия перечисленных препаратов остаются не изученными.

Таким образом, тема диссертации А.Н. Веревкина, посвященная исследованию воздействия мелатонин-корректирующих препаратов на свободнорадикальный гомеостаз тканей крыс при заболеваниях, сопряженных с развитием окислительного стресса, представляется актуальной и весьма интересной.

Определив целью своей работы изучение воздействия трех мелатонин-корректирующих препаратов (эпифамина, мелаксена и вальдоксана) на свободнорадикальный гомеостаз в тканях крыс при оксидативном стрессе, индуцированном развитием СД2 типа и РА, диссертант выполнил большой объем исследований, что позволило ему получить ряд интересных и важных результатов. Так, было установлено, что введение эпифамина, мелаксена и вальдоксана при развитии СД2 приводит к снижению концентрации глюкозы в сыворотке крови крыс, возрастающей при патологии. Кроме того, было обнаружено снижение некоторых маркерных показателей РА, которые стали приближаться к контрольным значениям. Эти результаты дают основания считать, что изучавшиеся препараты способны оказывать протекторное действие по отношению к оксидативному стрессу, развивающемуся при данных заболеваниях.

Более того, А.Н. Веревкину впервые удалось показать, что введение эпифамина, мелаксена и вальдоксана модельным животным с СД2 и РА, приводит к уменьшению интенсивности свободнорадикальных процессов, а также к коррекции функционирования некоторых ферментов антиоксидантной системы. При этом было обнаружено снижение

активности каспазы-3 и -8, а также степени фрагментации ДНК, что указывает на способность исследуемых веществ оказывать воздействие на интенсивность апоптотических процессов в тканях крыс.

К новым результатам, полученным диссертантом, можно отнести и данные, свидетельствующие о том, что после введения эпифамина, мелаксена и вальдоксана происходит снижение уровней продуктов экспрессии генов (транскриптов), кодирующих некоторые антиоксидантные ферменты в тканях крыс с СД2 и РА.

Выше перечисленные и ряд других результатов, имеющих в рассматриваемой диссертации, свидетельствуют о несомненной научно-практической значимости выполненной работы.

Диссертационная работа А.Н. Веревкина построена по традиционному плану, она включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, экспериментальная часть и обсуждение результатов, заключение и выводы. Завершает текст рукописи список литературы, насчитывающий 256 источников, в числе которых 211 зарубежных публикаций. Общий объем диссертации составляет 221 страниц печатного текста. Работа хорошо иллюстрирована, в ней содержится 59 рисунков и 9 таблиц.

Рукопись диссертации начинается с краткого введения (5 стр.), в котором обосновывается выбор темы работы и характеризуется её актуальность, а также формулируется цель и приводится описание задач исследования

Глава 1 (41 стр.) представляет собой обзор литературы, состоящий из пяти подразделов, в первом из которых автор представил тщательный анализ современных научных данных о биохимии оксидативного стресса и его роли в развитии различных патологических процессов. Второй подраздел посвящен биохимии сахарного диабета с особым акцентом на СД2, в частности, в нем значительное внимание уделено публикациям, в которых исследовались механизмы генерации активных кислородных метаболитов при этом заболевании. В третьем подразделе суммированы аналогичные материалы по РА. Четвертый подраздел (самый большой по объему в главе 1) содержит описание общих характеристик основных участников антиоксидантной системы и особенностей ее функционирования. В заключительном пятом подразделе диссертант сосредоточил внимание на биохимии мелатонина – гормона, обладающего широким спектром действия и выраженной антиоксидантной активностью. Таким образом, литературные сведения, собранные автором и проанализированные в главе 1, непосредственно связаны с темой рассматриваемой

диссертации, и позволяют составить адекватные представления по данной проблематике.

Глава 2, названная автором «Объект и методы исследования» (18 стр.), содержит достаточно подробное описание экспериментальных моделей и биохимических методик, которые использовались для решения поставленных задач. Значительное место в этой главе отведено описанию методов определения активности ряда ферментов, участвующих в функционировании антиоксидантной системы (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы, супероксиддисмутазы, каталазы и др.), что представляется вполне логичным. Кроме того, диссертант применял и ряд других известных биохимических методик. Особо надо отметить, что в арсенале диссертанта был набор современных методов количественного определения транскриптов (включающих полимеразную цепную реакцию в реальном времени), которые он применил при изучении продуктов экспрессии нескольких генов, обеспечивающих функционирование антиоксидантной системы. Соответственно, можно сделать заключение о том, что в представленной работе использовался широкий спектр современных биохимических методов, адекватных поставленным задачам. При этом работа была выполнена в соответствии с нормами гуманного обращения с лабораторными животными.

Полученные результаты вместе с их обсуждением А.Н. Веревкин представил в главах 3 (80 стр.) и 4 (37 стр.), каждая из которых состоит из нескольких подразделов. В главе 3 приводятся материалы полученные на модели СД2, а в главе 4 – РА. При этом общая структура каждой из глав схожа и логично вытекает из поставленных диссертационных задач.

В каждой главе сначала автор представляет данные о влиянии эпифамина, мелаксена и вальдоксана на маркерные показатели развития заболеваний, что представляется весьма важным этапом в исследованиях, поскольку влияет на весь ход дальнейшей работы. Затем, на основе анализа параметров биохемилюминесценции, уровня диеновых конъюгатов и активности аконитатгидратазы, проводится определение результатов воздействия мелатонин-корректирующих препаратов на интенсивность свободнорадикальных процессов. Отмечая возвращение указанных показателей к значениям, характерным для контрольных животных, диссертант обоснованно считает, что это свидетельствует о позитивном воздействии изучавшихся соединений. Далее приводятся результаты изучения апоптотических процессов в тканях крыс при введении протекторов модельным животным с соответствующей патологией и данные о влиянии мелатонин-корректирующих препаратов на антиоксидантную систему соответствующих групп экспериментальных животных. Завершают

каждую главу материалы, полученные при анализе уровней транскриптов генов, кодирующих некоторые антиоксидантные ферменты, что позволяет диссертанту подойти к выяснению возможных механизмов обнаруженных изменений активности у соответствующих ферментов.

В целом результаты работы автор обсуждает в кратком заключении (5 стр.) и далее формулирует семь выводов, которые непосредственно следуют из полученных материалов, что позволяет считать их достаточно обоснованными.

Экспериментальные данные, представленные в диссертации А.Н. Веревкина, получили адекватное отражение в автореферате и 25 публикациях автора, в числе которых три статьи, опубликованные в профильных, рецензируемых журналах, входящих в список рекомендуемых ВАК и регистрируемых в базах цитирования Web of Science и Scopus.

Существенных недостатков у рассмотренной работы не обнаружено, однако к ней имеются отдельные частные замечания и пожелания.

Во-первых, в качестве вывода №7 диссертант предлагает гипотетическую схему, отражающую участие мелатонин-корректирующих препаратов в регуляции свободнорадикального гомеостаза при двух изучавшихся заболеваниях, сопряженных с развитием оксидативного стресса. Естественно, что эта схема сформирована, как с использованием диссертационных материалов, так и литературных сведений. Она представляется вполне уместной в заключении диссертации, но включение ее в число выводов вряд ли целесообразно, поскольку это все таки пока лишь гипотеза.

Во-вторых, обращает внимание то, что в обзоре литературы А.Н. Веревкин не приводит практически никаких иллюстраций (ни рисунков, ни таблиц). Отсутствуют также имеющиеся в литературе формулы мелаксена и вальдоксана (действующее начало агомелатин) - основных изучавшихся соединений. Внесение соответствующих дополнений в рукопись позволило бы облегчить читателями восприятие приводимых материалов.

В- третьих, по всей видимости, название работы, которое на первой странице диссертации (и автореферата) занимает несколько строк, можно было бы сократить, оставив в заголовке только самое главное.

Очевидно, что все отмеченные замечания и пожелания относятся только к оформлению диссертации и никак не влияют на её общую высокую оценку. Важно подчеркнуть так же то, что результаты, полученные в ходе данной работы, могут быть использованы в исследованиях, проводимых в ряде Федеральных государственных бюджетных учреждениях науки, в частности в ФИЦ Биотехнологии РАН, Институте фундаментальных проблем биологии РАН, Институте молекулярной биологии им. В.А

Энгельгардта РАН, а также в учебном процессе при подготовке специалистов медико-биологического профиля.

Таким образом, все вышеизложенное позволяет сделать заключение, что 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, выполненной на высоком научно-методическом уровне, в которой решена актуальная задача по коррекции состояния свободнорадикального гомеостаза при патологических состояниях, сопряженных с оксидативным стрессом, с помощью мелатонинергических препаратов. Соответственно, данная работа удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а её автор А.Н. Веревкин заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на совместном научном семинаре лабораторий биомедицинских исследований, иммунобиохимии и биоэнергетики Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук 11 октября 2016 г. (Протокол № 5).

Заведующий лабораторией биомедицинских исследований
Института биохимии им. А.Н.Баха Федерального Исследовательского Центра
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук (119071, г.
Москва, Ленинский проспект, д. 33),
доктор биологических наук, профессор

Шишкин Сергей Сергеевич
Тел.: (495) 952-18-86
E-mail: Shishkin@mbi.ras.ru



«Подпись Шишкина С.С. заверяю»

Ученый секретарь Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН
кандидат биологических наук

А.Ф. Орловский