

## УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной работе  
Федерального государственного  
учреждения «Федеральный  
исследовательский центр

«Фундаментальные основы  
биотехнологии» Российской академии  
наук»



А.Н. Федоров

2019г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации о диссертационной работе Гориной Е.И. «Воздействие бигуанидиновых производных на антиоксидантный статус крыс при гипергликемии, индуцированной стрептозоцином и протамина-сульфатом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. - Биохимия

### Структура и объем работы

Структура представленной диссертационной работы стандартна и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части и обсуждения результатов (2 главы), заключения, выводов, списка литературы (213 источников) и приложения. Иллюстративный материал включает 58 рисунков и 14 таблиц.

Обзор литературы содержит тщательный анализ современных литературных данных, полно освещающий вопросы, касающиеся роли свободнорадикального окисления в развитии сахарного диабета 2 типа, функционирования антиоксидантной системы организма в условиях окислительного стресса, а также биологической активности бигуанидиновых производных. Подробно освещены биохимические механизмы развития

гипергликемии при сахарном диабете, уделено внимание транскрипционной регуляции адаптивного ответа клеток на повреждающие стрессовые факторы.

Хорошее впечатление оставляет методическая часть диссертационной работы, автором используются современные методы и подходы физико-химической и молекулярной биологии, которые описаны подробно, могут быть легко воспроизведены и соответствуют поставленным задачам. Работа выполнена в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию вивария и нормами гуманного обращения с лабораторными животными (ГОСТ 31886-2012). Автором была проведена необходимая статистическая обработка данных.

Экспериментальная часть работы (главы 3 и 4) выполнена на высоком научно-методическом уровне. Структура глав схожа и логично вытекает из цели исследования.

Сначала автор представляет данные о влиянии бигуанидиновых производных - N-[имино(1-пиперидинил)метил]гуанидина (НИПМГ) и 1,3-диметил 5- [(карбамимидаметанимидоил)амино]бензол-1,3-дикарбоксилата (ДКБ), а также препарата сравнения – метформина, на маркерный показатель развития гипергликемии, что является важным этапом и определяет ход дальнейших исследований. Выявлены среднелетальные дозы тестируемых веществ, что позволило диссертанту отнести их к классу малотоксичных. Затем, на основе анализа параметров биофлуоресценции, уровня диеновых конъюгатов, продуктов окислительной модификации белков и активности аконитатгидратазы определено воздействие НИПМГ и ДКБ на интенсивность свободнорадикальных процессов. Отмечено изменение данных показателей в сторону контрольных значений, что свидетельствует о позитивном регулирующем действии указанных соединений.

В следующем подразделе диссертантом приведены результаты исследования апоптотических процессов в тканях крыс при введении

тестируемых веществ животным с гипергликемией, индуцированной с помощью различных экспериментальных моделей

Далее следует раздел, описывающий влияние бигуанидных производных на антиоксидантную систему крыс при гипергликемии, индуцированной стрептозоцином и протамин-сульфатом. Проведен анализ уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов в тканях крыс с патологией при введении НИПМГ и ДКБ, что имеет важное значение для выявления механизмов изменения активности ферментов. Осуществлено исследование воздействия бигуанидиновых производных на активность ферментов-поставщиков восстановительных эквивалентов в виде НАДФН для работы глутатионовой антиоксидантной системы в тканях крыс с гипергликемией.

Выводы, сформулированные автором, достоверны и логично следуют из полученных результатов.

#### **Актуальность темы выполненной работы**

В настоящее время имеется достаточно большой объем данных, свидетельствующих, что в основе патогенеза многих заболеваний, в том числе и сахарного диабета 2 типа, лежит нарушение баланса между скоростью образования активных форм кислорода и интенсивностью функционирования антиоксидантной системы организма. Нарушение метаболизма глюкозы в условиях гипергликемии является пусковым фактором в развитии окислительного стресса - ключевого звена патогенеза при сахарном диабете 2 типа и его как микрососудистых, так и сердечно-сосудистых осложнений.

Интенсификация свободнорадикальных процессов и недостаточность антиоксидантных резервов организма в условиях нарастания ОС при сахарном диабете 2 типа делает целесообразным поиск веществ-протекторов, обладающих антиоксидантными свойствами с целью коррекции метаболических нарушений и снижения риска развития осложнений. К соединениям с целевой биологической активностью могут быть отнесены

НИПМГ и ДКБ – синтетические бигуанидиновые производные. В настоящее время известно, что некоторые бигуанидиновые производные могут оказывать существенное влияние на окислительный гомеостаз, обладают антиоксидантной активностью, гипогликемическими, антисептическими, кардиопротекторными, противоопухолевыми и другими свойствами.

Таким образом, исследования, направленные на оценку воздействия НИПМГ и ДКБ на антиоксидантный статус при гипергликемии в эксперименте на животных, представляются весьма актуальными.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, для науки и практики**

Впервые осуществлено комплексное исследование воздействия бигуанидиновых производных – НИПМГ и ДКБ на интенсивность свободнорадикального окисления биомолекул (липидов, белков, нуклеиновых кислот), активность и содержание ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы, ряда ферментов окислительного метаболизма, а также уровень транскриптов генов антиоксидантных ферментов в тканях крыс с гипергликемией, индуцированной с помощью различных экспериментальных моделей. Автором приведен большой объем данных, свидетельствующих о снижении выраженности окислительного стресса, степени мобилизации антиоксидантной системы, а также отмечено снижение интенсивности апоптотических процессов под действием исследуемых соединений. Выявлено снижение уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов в тканях крыс с патологией при введении исследуемых веществ, что соотносится с изменениями активности ферментов. Проведен сравнительный анализ эффективности разных доз исследуемых соединений. Выявлены среднелетальные дозы тестируемых бигуанидиновых производных. Осуществлено исследование воздействия НИПМГ и ДКБ на активность ферментов-поставщиков восстановительных эквивалентов в виде НАДФН для работы глутатионовой АОС в тканях крыс с гипергликемией,

индуцированной Дана сравнительная характеристика ряда параметров СО при введении животным с гипергликемией НИМПГ, ДКБ и метформина (препарата сравнения).

Научная обоснованность результатов диссертационного исследования аргументирована большим количеством фактического материала, новизна не только данных, полученных в результате проведенных исследований, но и новизна ряда подходов автора не вызывает сомнения. Решение такой фундаментальной научной проблемы как исследование функционирования метаболических систем клетки в условиях патологии, по-видимому, сможет найти непосредственное приложение в практике в силу того, что может способствовать выбору адекватных путей предотвращения и блокирования развития окислительного стресса, считающегося в настоящее время универсальным неспецифическим звеном патогенеза многих социально-значимых заболеваний.

По результатам работы опубликовано четыре статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в список научных изданий, рекомендованных ВАК РФ. Результаты доложены на самых представительных российских и международных научных конференциях. Публикации и автореферат в полной мере отражают содержание диссертации.

#### **Замечания по диссертации**

В целом диссертационная работа оставляет очень хорошее впечатление. Принципиальных замечаний к работе Гориной Е.И. нет. Научная значимость, достоверность и обоснованность результатов, представленных диссертантом, не вызывают сомнений.

Вместе с тем, на наш взгляд, интересная экспериментальная работа, выполненная диссертантом, вынуждает поставить перед автором ряд вопросов, которые, несомненно, носят полемический характер и подчеркивают актуальность выполненной диссертации:

1. Было бы интересно оценить антиоксидантную активность исследуемых бигуанидиновых производных *in vitro*.

2. В исследовании приводятся данные, свидетельствующие об изменении уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов, что может выступать в качестве одного из механизмов регуляции компонентов антиоксидантной защиты. В то же время, было бы целесообразно провести оценку каталитических свойств анализируемых ферментов для выяснения зависимости их активности от конформационного состояния молекулы.

3. Большая часть экспериментальных данных была получена при исследовании протамин-сульфатной модели индукции гипергликемии, хотелось бы расширить тестируемые дозы бигуанидов и при моделировании гипергликемии с помощью стрептозоцина у крыс.

Сделанные замечания не носят принципиального характера и не снижают общей положительной оценки.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные диссертантом результаты могут быть использованы при проведении научно-исследовательской работы и в учебном процессе при чтении лекций по общему курсу «Биохимия», а также спецкурсов по патобиохимии и медицинской энзимологии в Воронежском государственном университете, Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко, Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И. Пирогова, Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук и ряде других учебных и научных центров России.

#### **Заключение**

На основании всего вышеизложенного можно сделать заключение, что диссертация Е.И. Гориной «Воздействие бигуанидиновых производных на антиоксидантный статус крыс при гипергликемии, индуцированной стрептозоцином и протамин-сульфатом» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по исследованию воздействия бигуанидиновых

производных на антиоксидантный статус крыс при гипергликемии. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 03.01.04. – Биохимия и полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор Горина Екатерина Ильинична достойна присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – Биохимия.

Отзыв обсужден и утвержден на совместном семинаре лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота и лаборатории иммунохимии ФИЦ Биотехнологии РАН

« 4 » апрель 2019 г. (протокол № 4 )

Заведующий лабораторией биохимии  
азотофиксации и метаболизма азота  
Федерального исследовательского центра  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук  
доктор биологических наук, профессор

Российская Федерация, 119071, г. Москва,  
Ленинский проспект, дом 33, строение 1,  
Телефон +7 (495) 660-34-30 доб. 199  
e-mail: aftopunov@yandex.ru

