

ОТЗЫВ

на диссертационную работу Шэйбек А.Ж. «Предотвращение восстановленным глутатионом деструкции панкреатических В-клеток, вызываемой диабетогенными цинк связывающими веществами и исследование механизмов его предупреждающего действия», представленной на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности «6D060700-Биология».

Актуальность проблемы. Сахарный диабет- это заболевание лиц преимущественно трудоспособного возраста, приводящее к инвалидизации. Трудности достижения нормальных показателей гликемии, характерных для здоровых лиц, приводят к прогрессированию хронических осложнений заболевания. Гипергликемия при сахарном диабете вызывает активацию оксидативного стресса, неферментативного гликозилирования белков, секрецию провоспалительных цитокинов клетками-продуцентами, что способствует формированию осложнений сахарного диабета. В связи с вышеизложенным существует необходимость расширить набор терапевтических средств, необходимых для предупреждения развития сахарного диабета и преодоления хронических осложнений, имеющих место при сформировавшемся заболевании.

Изучение потенциальной возможности медицинского применения глутатиона как вещества, способного предотвращать развитие диабета является достаточно перспективным научным направлением. Изучаемая проблема имеет как фундаментальное, поскольку раскрывает механизмы антидиабетического действия глутатиона, так и прикладное (клиническое) значение, учитывая отсутствие токсичности и особые физико-химические характеристики изучаемого материала.

Вышесказанное дает основание утверждать, что научная проблема, сформулированная в диссертации, является актуальной, а ее решение дает теоретическое обоснование для создания и использования восстановленной формы глутатиона в качестве нового профилактического средства, предотвращающего развитие диабета и способствующего коррекции его осложнений.

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

В диссертации дается детальный анализ публикаций о роли цинка в развитии диабета, а также механизма диабетогенного действия цинк- связывающими веществами. Достоверность результатов исследования подтверждена математической обработкой данных и широкой апробацией материалов работы на международных и конференциях. Положения, выносимые на защиту, созвучны с целями и задачами. Работа выполнена на

высоком научно-методическом уровне с использованием современного разнообразного спектра исследований. В работе используются гистологические, иммуногистохимические, биохимические методы исследования. Достаточно уникальным является метод культуры изолированных панкреатических островков, позволяющий изучить механизмы действия и дозы изучаемых веществ на клеточном уровне.

Достоверность полученных результатов обеспечена большим объемом исследований, проведенных в экспериментах на кроликах и с использованием культуральных методов исследования. Объектом исследования являлись инсулинпродуцирующие β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы и культуры изолированных панкреатических островков белых крыс и кроликов, периферическая кровь животных с экспериментальным дитизоновым диабетом и диабетом, вызываемом 8-пара(толуолсульфонилами-но) хинолином (8ТСХ).

Обоснованность положений, выносимых на защиту соискателем базируется на согласованности полученных данных и научных выводов.

Новизна исследования.

В отличие от других клеток организма β -клетки обладают низкой активностью антиоксидантных ферментов, поэтому глутатион, с его выраженным антиоксидантным действием должен защищать инсулиноциты от токсического действия продуктов оксидативного стресса. Изучение превентивного введения глутатиона позволило выявить основные механизмы, наиболее важные реакции его противодиабетического действия.

Новизной обладает выявленный и доказанный в работе механизм противодиабетического действия глутатиона, заключающийся в специфическом связывании молекул цинка SH-группами, приводящий к уменьшению повреждения β -клеток островков Лангерганса. Показано, что эта способность обусловлена наличием в молекуле восстановленного глутатиона SH-радикала, благодаря которому происходит блокирование цинка, что препятствует формированию химических комплексов с хелаторами, разрушающих β -клетки.

Впервые автором на экспериментальной модели у животных с экспериментальным дитизоновым диабетом и диабетом, вызываемом производными 8-оксихинолина с использованием высокоспецифичных и чувствительных методов иммуногистохимического и гистологического анализа ткани поджелудочной железы и В-клеток панкреатических островков, равно как и метода культуры изолированных панкреатических островков, изучен характер прямого действия диабетогенных веществ, пептидов и аминокислот, содержащих SH-группу, непосредственно только на β -клетки.

Научные результаты

В главе 3 диссертантом подробно изложены результаты собственных научных исследований и их обсуждение.

Дана подробная характеристика морфофункционального состояния β –клеток при экспериментальном моделировании диабета с использованием двух диabetогенов – дитизона и производных 8-оксихинолина. В связи со спецификой экспериментальной модели автором было определено содержание Zn в островках. Не вызывает сомнений, что полученная экспериментальная модель отражает изменения, развивающееся при экспериментальном диабете I типа.

Автором подробно описано влияние глутатиона, его окисленной и восстановленной формы на степень повреждения островков Лангерганса и на биохимические показатели крови при действии цинк связывающих диabetогенных веществ.

Впервые установлено, что восстановленный глутатион, в дозе 1000 мг/кг предотвращает повреждение β -клеток при развитии экспериментального диабета, что подтверждается не только гистологически, иммуногистохимически на срезах поджелудочной железы, но и биохимическими показателями крови экспериментальных животных.

Особенно следует отметить высокое качество гистологических препаратов. Микрофотографии удивительно четкие, в них хорошо видна структура островков, β -клеток, гранулы Zn.

Несомненной заслугой автора является предложенный механизм антидиабетического действия восстановленной формы глутатиона. Что особенно важно, в диссертации приводятся убедительные доказательства, экспериментально подтверждающие цинк связывающее действие глутатиона. Впервые показано, что в механизме действия глутатиона, как и аминокислоты цистеина, основное значение имеет его способность связывать островковый цинк благодаря его взаимодействию с SH- группами, не давая возможности ДЦВ формировать токсичные комплексы с цинком, разрушающие β -клетки. Впервые установлено, что окисленный глутатион, имеющий такое же химическое строение, но не содержащий SH-радикала, противодиabetогенным действием не обладает.

Культуральные методы исследования достаточно сложны в исполнении, поскольку жизнеспособность культуры зависит от тщательности проведения и чистоты эксперимента. Диссертанту не только удалось получить культуру островков, что само по себе является уникальным фактом, но и провести на ней ряд экспериментов, доказывающих правильность своих предположений. В опытах на культуре изолированных панкреатических островков с использованием двух форм глутатиона впервые установлено, что восстановленный глутатион оказывает прямое воздействие на β -клетки, что

сопровождается практически полным связыванием островкового цинка, что и препятствует действию цинк связывающих диабетогенных веществ.

Автором доказано- превентивное действие глутатиона вызывает повышение антиоксидантной защиты организма, что также положительно сказывается на сохранении β -клеток и их функциональной активности при развитии диабета.

Диссертанткой проведены исследования по блокированию синтеза эндогенного синтеза ДЦВ в организме при введении пиродоксина. Впервые показано, что метод подавления эндогенного синтеза в организме одного из цинксвязывающих веществ -4,8-дигидроксихинолин-2-карбоновой кислоты (ксантуруеновой кислоты)- обладает меньшей эффективностью: ее уровень в моче хотя и снижался в 3 раза по сравнению с опытными животными, но все же оставался в 2,5-3 раза выше по сравнению с контрольной группой, что способствовало снижению уровня гликемии с 12,4 ммоль/л до 8,0 ммоль /л.

Теоретическая и практическая значимость

Обоснованность положений, выносимых на защиту соискателем базируется на согласованности полученных данных и научных выводов. Теоретические положения основываются на известных достижениях фундаментальных и прикладных научных дисциплин- патофизиологии, гематологии, биохимии, эндокринологии. Достоверность полученных результатов обеспечивается адекватным выбором методов статистической обработки полученных данных.

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в обосновании механизма действия восстановленной формы глутатиона за счет формирования внутрикомплексных соединений с цинком, содержащимся в панкреатических β -клетках, что предотвращает их разрушение при действии широкой группы диабетогенных веществ, связывающих цинк диабетогенов. Такой механизм действия соединений обусловлен наличием в них меркаптогруппы.

Практическое значение работы определяется тем, что полученные данные дают основу для дальнейших исследований возможности использования восстановленной формы глутатиона и аминокислоты цистеина в качестве профилактических средств, обладающих антидиабетическим действием.

По результатам исследования типографским способом издано 1 методическое пособие объемом 50 стр., получены Акты внедрения результатов исследования в практику научной работы и в учебный процесс в университетах Астаны, Ханты-Мансийска и Караганды.

Структура и объем диссертации.

Структура диссертации определена поставленными задачами. Диссертация построена по традиционному плану: состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной

материалам и методам исследования, глав, отражающих результаты собственных исследований и их обсуждения, заключения, списка использованных источников, приложения. Библиографический список включает 197 источников. Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 18 таблицами, 20 рисунками, включая 48 микрофотографий.

Апробация работы и публикации

Высокое качество и признание данной работы мировым научным сообществом подтверждается тем, что основные результаты работы отражены в 29 печатных работах, в том числе в 7 работах, включая 3 статьи в цитируемых зарубежных журналах по базам Thomson & Reuters и Scopus, в 14 статьях рекомендованных ККСОН МОН РК, в 2 статьях в журналах по базе РИНЦ (Россия). 3 работы были представлены и опубликованы в цитируемых журналах с материалами европейских и американского научных конгрессов. Ряд работ были также представлены и опубликованы в материалах международных конференций проведенных в Казахстане и России.

Основные результаты были представлены на конгрессах и конференциях международного и регионального уровня.

Что касается оформления работы, то можно отметить наличие отдельных ошибок и неточностей.

В диаграмме на стр. 57 нет заглавия, не указаны достоверности и доверительные интервалы. Также на стр. 88 нет заглавия графика. Нет единообразия в оформлении таблиц, и особенно в примечаниях к ним.

Оглавление диссертационной работы составлено не вполне корректно, так как непонятно, глава 3 является единственной по результатам работы, а главы 4,5 входят в нее или являются самостоятельными главами? В работе имеются частые повторы относительно специфики экспериментальной модели, достаточно было описать подробно один раз.

При рецензировании работы возникли следующие вопросы:

1. Почему в исследованиях на культурах островков использовали островки крысят, тогда как основная работа выполнена на половозрелых кроликах?
2. Почему при проведении культурального исследования не был произведен тест на жизнеспособность клеток, что является обязательным для проведения работ с культурами тканей?
3. Чем обусловлен выбор доз глутатиона для введения в культуру островков и зрелым животным?

Однозначно следует отметить, что высказанные замечания и недостатки не влияют на общую положительную оценку работы.

Диссертационная работа Шэйбек А.Ж. «Предотвращение восстановленным глутатионом деструкции панкреатических β -клеток, вызываемой диабетогенными цинксвязывающими веществами и исследование механизмов его предупреждающего действия» является законченным научным исследованием и отвечает всем предъявленным требованиям «Правил присуждения ученых степеней» к докторским диссертациям по стандарту Комитета по обеспечению качества в сфере образования и науки МОН РК, а её автор Шэйбек Алтынай Жұпарқызы безусловно, заслуживает присуждения искомой степени доктора философии (PhD), специальность «6D060700-Биология».

Официальный оппонент,
Доктор биологических наук, доцент
заведующая лабораторией морфологии и биохимии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук
(ИИФ УрО РАН)
Первомайская ул., 106, г. Екатеринбург, 620049
Тел./факс (343) 374-00-70
E mail:ig-danilova@yandex.ru

Данилова Ирина Георгиевна

Подпись Даниловой Ирины Георгиевны заверяю

Кандидат биологических наук,
ученый секретарь Федерального государственного
учреждения науки Институт иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук
(ИИФ УрО РАН)
Храмцова Юлия Сергеевна

23 ноября 2020г

