

ВІДГУК

офіційного опонента

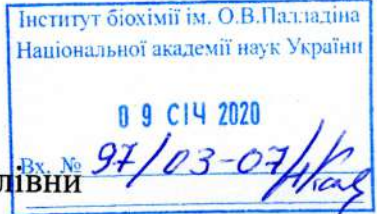
на дисертацію Тихоненко Тетяни Михайлівни

«Механізми реалізації дії вітаміну В₃ та його похідних

за експериментального цукрового діабету»,

подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.04 – біохімія



Актуальність обраної теми, новизна та практична значимість результатів досліджень. Для підтримки життєдіяльності організму важливу роль відіграють вітаміни, нестача яких призводить до розвитку специфічних захворювань. Серед вітамінів важлива роль у підтримці гомеостазу організму належить вітаміну В₃, який є попередником біосинтезу нікотинамідаденіндинуклеотиду та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату, що є коферментами більшої кількості оборотно діючих в окисно-відновних реакціях дегідрогеназ. Вітамін В₃ та його похідні використовують для лікування багатьох нейродегенеративних та психічних захворювань. На сьогоднішній день актуальним питанням є застосування нікотинаміду для корекції метаболічних порушень при цукровому діабеті, який супроводжується численними ускладненнями. Тому з'ясування ролі вітаміну В₃ та його похідних у гомеостазі НАД-залежних процесів при цукровому діабеті є актуальним питанням, вирішення якого допоможе у пошуку шляхів лікування та профілактики даного захворювання та його ускладнень.

З огляду на все сказане вище дисертаційна робота Тихоненко Тетяни Михайлівни є важливою та актуальною, яка направлена на виявлення нових функціональних мішеней дії вітаміну В₃ та його похідних, що сприятиме розумінню перебігу цих процесів та може бути основою для розробки нових методів і засобів для профілактики та лікування цукрового діабету та його ускладнень.

Новизна дисертаційних досліджень полягає у проведенні комплексного дослідження на моделі стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету щодо з'ясування механізмів дії нікотинаміду (NAm) та нікотиноїл-

гамааміномасляної кислоти (N-GABA). Виявлено, що NAm та N-GABA проявляють антиоксидантну та протизапальну дію, а останній – також слабку гіпоглікемічну дію. Встановлено, що досліджувані сполуки, пригнічуючи активацію поліолового шляху обміну глюкози в мозку, його структурах та у сидничному нерві, також запобігають структурним змінам у цих органах, відновлюючи їх функції. Показано, що за цих порушень у мозку діабетичних тварин відбуваються суттєві зміни вмісту ключових протеїнів: зниження вмісту nNOS, VEGF, MBP, NF-L, NF-H, при цьому вміст NF-κB, BAX, GFAP, NF-M підвищується, а вміст віментину не змінюється. Виявлено, що механізми дії NAm та N-GABA реалізуються як через НАД-залежні процеси, так і опосередковано із залученням інших механізмів на рівні вмісту протеїнів, оскільки NAm та N-GABA проявляють корекційну дію на вміст nNOS, VEGF, NF-κB, BAX, при чому NAm має більш нормалізуючий ефект на вміст NF-L, NF-H, а N-GABA на вміст MBP. Також встановлено, що введення N-GABA призводить до підвищення вмісту протеїну віментину та GFAP, що може бути результатом проліферації астроцитів як адаптаційно-захисної реакції. Показано, що у мозку діабетичних тварин відбувається порушення структурної цілісності його клітин та проникності гематоенцефалічного бар'єру: підвищення вмісту GFAP та NF-L у сироватці крові діабетичних тварин, вміст яких знижується при застосуванні NAm та N-GABA.

Таким чином, отримані результати розширюють уявлення про біохімічні механізми дії вітаміну B₃ та його біологічно активних похідних за експериментального цукрового діабету, що допоможе вдосконаленню методів корекції функціональних порушень у тканинах підшлункової залози, мозку, сидничного нерва, нирках, які виникають за умов даної патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась у рамках наукових досліджень відділу біохімії вітамінів і коензимів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у відповідності з напрямком науково-дослідних робіт Інституту за темами: “Дослідження молекулярних механізмів реалізації біологічної ролі вітамінів, коензимів та їхніх протеїнів-акцепторів у забезпеченні функціонування та життєздатності

клітин за норми та за умов деяких патологій” (2007-2011 рр., № д.р.0107V003251), “Роль вітамінів А, Е, В₁, РР, Д₃, убіхінону та їх коензимів у забезпеченні функціонування спеціалізованих клітин за норми та за умов ініціації їх загибелі” (2012-2016 рр., № д.р. 0112U002625), “Молекулярні механізми залучення вітамінів, їх метаболічно активних похідних і коензимів у функціонування регуляторних систем клітин за норми та патологічних станів” (2017-2021 рр., № д.р. 0117U004345). Роботу було підтримано Премією Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за кращу наукову роботу молодих вчених у 2015 та 2018 роках та грантом для візиту молодих науковців НАН України на стажування у науково-дослідну установу Польської Академії Наук.

Структура дисертації. Структура дисертаційної роботи класична. Основна частина складається зі вступу, огляду літератури, результатів власних досліджень та їх обговорення, узагальнення та висновків. Робота містить також список використаних джерел із 241 найменування (95 посилань за останні п'ять років). Дисертація викладена на 158 сторінках машинописного тексту (127 сторінок основної частини), результати подані у вигляді 27 рисунків та 7 таблиць.

На початку роботи наведена анотація українською та англійською мовами, де стисло подані отримані результати із зазначенням їх новизни. Наприкінці анотації містяться ключові слова та список публікацій здобувача за темою дисертації.

У «Вступі» згідно з вимогами, які ставляться до такого роду наукових робіт, подана загальна характеристика дисертації, а саме: обґрунтовується актуальність обраної тематики, вказаний зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, а також сформульовані мета і завдання досліджень; названі методи наукових досліджень із уточненням, що саме досліджувалось тими чи іншими методами. У «Вступі» також визначена наукова новизна отриманих результатів, їх практичне значення та особистий внесок здобувача із зазначенням кількості публікацій за матеріалами дисертаційної роботи та апробації результатів, а також вказана структура дисертації.

Розділ «Огляд літератури» викладений на 23 сторінках машинописного тексту, що складає 20% обсягу основної частини дисертації. У даному розділі викладені сучасні відомості щодо фізико-хімічних властивостей та біологічного значення вітаміну В₃ та його похідних. Обговорено патогенетичні механізми залучені до метаболічних, структурних та функціональних порушень за цукрового діабету та його ускладнень. Висвітлено сучасні уявлення щодо реалізації механізмів дії вітаміну В₃ за рахунок НАД-залежних процесів. Розділ завершується підсумком щодо аналізу наукової літератури з досліджуваної проблеми та визначенням власного завдання у дослідженні молекулярних механізмів дії вітаміну В₃ та його біоактивних похідних за експериментального цукрового діабету 1 типу.

Розділ II «Матеріали та методи досліджень» містить інформацію про використані матеріали та реактиви, опис моделі експерименту та принципи методів експериментальних досліджень. Серед методів – біохімічні та оптичні (спектрофотометрія, протокова цитометрія, світлова та конфокальна мікроскопія); молекулярно-біологічні (електрофорез, імуноблотинг, імуногістохімія); методи роботи з культурою клітин еукаріот (культивування, оцінка їх функціонального стану) та методи математичної статистики.

Розділ III «Результати досліджень та їх обговорення» містить два підрозділи.

У підрозділі 3.1. наведені показники розвитку патогенетичних процесів за цукрового діабету 1 типу та за дії на його тлі NAM та N-GABA.

У підрозділі 3.2. описані та обговорені результати досліджень перебігу основних патогенетичних процесів за ускладнень цукрового діабету.

Після розділу «Результати досліджень та їх обговорення» дисертантом зроблені узагальнення та висновки. У розділі «Узагальнення отриманих результатів» проведений інтегративний аналіз отриманих результатів із встановленням можливих причинно-наслідкових взаємозв'язків встановлених змін. Автором наведено 5 висновків, які випливають із результатів проведених досліджень. У списку використаних джерел 241 найменування, з яких 95 за останні 5 років.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій. Сформульовані положення та висновки ґрунтуються на результатах, отриманих на основі достатньої кількості повторностей з використанням сучасних біохімічних, молекулярно-біологічних, мікроскопічних та культуральних методів досліджень. Достовірність даних підтверджена статистичним аналізом.

Повнота викладу основних результатів досліджень у наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць, з яких 8 статей у фахових журналах та 11 тез доповідей на Всеукраїнських та міжнародних наукових конгресах, конференціях та з'їздах.

Однак, незважаючи на позитивне враження від роботи в цілому, все ж виникають певні зауваження та запитання.

1. У дисертаційній роботі відсутні групи тварин, яким окремо вводили препарати нікотинаміду (NAm) та нікотиноїл-гамааміномасляної кислоти (N-GABA). Це дозволило би виявити їх можливий вплив на інтактні тварини.

2. У розділі «Матеріали та методи» у підрозділі 2.8 «Визначення концентрації протеїну» не вказаний принцип методу кількісного визначення білка.

3. У розділі «Результати досліджень та їх обговорення» у підрозділах 4.1. «Структурні та метаболічні зміни у сідничному нерві індуковані ЦД 1 типу» та 4.2. «Дія NAm та N-GABA на перебіг патогенетичних процесів у мозку за ЦД 1 типу» відсутні дані амінокислотного складу колагену I типу у кістковій тканині та експресії сіртуїнів в ядрах мозку щурів, хоча в тексті вони обговорюються.

4. У висновках з поставленими завданнями є деякі неузгодження: у третьому завданні необхідно було «Охарактеризувати стан поліолового шляху обміну глюкози у мозку діабетичних щурів та за введення тваринам NAm та N-GABA», а висновок стосується лише дії NAm. Також завдання 4 та 5 висвітлені у одному висновку 4. Узагальнюючий висновок також треба було розширити та конкретизувати стосовно отриманих результатів.

5. Немає узагальнюючої схеми отриманих результатів, що дозволило би систематизувати всі отримані дані та покращити сприйняття отриманих результатів.

6. Чому частина роботи виконана при дослідженні лише дії препарату нікотинаміду (NAm), а не обох біоактивних похідних вітаміну B₃?

7. Який механізм антиоксидантної та антизапальної дії досліджуваних похідних вітаміну B₃ (нікотинаміду та нікотиноїл-гамааміномасляної кислоти) при експериментальному цукровому діабеті?

Проте, зроблені зауваження та поставлені запитання, в основному, мають дискусійний характер і суттєво не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Загальний висновок

У цілому кандидатська дисертація Тихоненко Тетяни Михайлівни «Механізми реалізації дії вітаміну B₃ та його похідних за експериментального цукрового діабету», подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія, є завершеною науковою працею, в якій отримано результати, що в сукупності вирішують поставлену проблему щодо комплексного дослідження молекулярних механізмів дії вітаміну B₃ та його біоактивних похідних за експериментального цукрового діабету 1 типу.

Отримані результати поглиблюють існуючі на сьогодні уявлення щодо механізмів дії вітаміну B₃ та його біологічно активних похідних за цукрового діабету, що сприятиме вдосконаленню методів корекції функціональних порушень у тканинах підшлункової залози, мозку, сідничного нерва, нирках, які виникають за цієї патології. Завдяки їх антиоксидантній, протизапальній дії, а також реалізації дії на рівні ключових протеїнів мозку ці сполуки можна рекомендувати для використання у клініці цукрового діабету та його ускладнень. Крім того, отримані результати дослідження є основою для подальшого створення нових кон'югованих препаратів на основі вітаміну B₃ та його біологічно активних похідних для корекції виявлених порушень у клітинах, тканинах та органах, індукованих цукровим діабетом.

На основі аналізу об'єкта дисертаційного дослідження, яким є молекулярні механізми опосередкованого нікотинамід та нікотиноїл-гаммааміномасляна кислота регулювання NAD-залежних процесів за цукрового діабету 1 типу та його ускладнень, дисертант робить практичні та теоретичні висновки.

Зміст автореферату в цілому відповідає змісту дисертації.

Дисертація та автореферат оформлені відповідно до вимог, які ставляться до такого роду робіт.

На підставі всього викладеного вище дисертаційну роботу Тихоненко Тетяни Михайлівни «Механізми реалізації дії вітаміну В₃ та його похідних за експериментального цукрового діабету» можна вважати такою, що за актуальністю, науковою новизною, обсягом виконаних досліджень, методичним рівнем та значимістю відповідає вимогам п. 9, 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабміну України від 24.07.2013 № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Д.б.н., с.н.с., зав. НДЛ «Біохімії»

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

К.О. Дворщенко

Бізнес ф.б.в.
К.О. Дворщенко
факт Дворщенко
Світлана Сокурова