

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.014.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК
аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 21.09.2021 г. №13

О присуждении Биджиевой Фатиме Асхатовне, гражданке России, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация "Особенности течения экспериментального аллоксан-индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции" по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 29.06.2021 г., протокол № 12, диссертационным советом 21.2.014.02, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4, действующим на основании приказа Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки Министерства образования Российской Федерации от 16.01.2009 г. №34-1, приказом Минобрнауки России от 11.04.2012 г. № 105/нк совет признан соответствующим Положению о совете по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук.

Биджиева Фатима Асхатовна, 1970 года рождения. В 1998 году окончила Ставропольскую государственную медицинскую академию. Работает старшим преподавателем кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Федерации на кафедре общей и биологической химии.

Научный руководитель – доктор биологических наук, доцент Эльбекьян Карине Сергеевна, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и биологической химии, заведующая кафедрой.

Официальные оппоненты:

1. Мустафин Ильшат Ганиевич (гражданин России), доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики, заведующий кафедрой;

2. Микашинович Зоя Ивановна (гражданка России), доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической биохимии №1, заведующая кафедрой – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, в своем положительном заключении, подписанном Гильмияровой Фридой Насыровной, доктором медицинских наук, профессором, профессором кафедры фундаментальной и клинической биохимии, указала, что "диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой..., соответствует требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней"..., а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия".

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях и приравненных к ним опубликовано 3 ра-

боты. Краткая характеристика работ (вид, количество, объем в страницах, творческий вклад в %): статьи в журналах – 5, 13, 50; сборник научных трудов – 2, 11, 27; материалы и тезисы конференций – 9, 20, 44. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Биджиева, Ф.А. Биохимические особенности аллоксан – индуцированного сахарного диабета / Ф.А. Биджиева // Медицинский алфавит. – 2018. – Т.2, №31(638). – С. 12-14.

2. Особенности протекания аллоксан-индуцированного сахарного диабета у экспериментальных крыс / Ф.А. Биджиева, К.С. Эльбекьян, А.Б. Ходжаян, М.Г. Гевандова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14, № 1-2. – С. 264-267.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: Цикуниб Аминет Джахфаровны, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедрой биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Адыгейский государственный университет" и Ключевой Марии Евгеньевны, доктора химических наук, профессора, заведующей кафедрой химии, физики, математики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Ивановская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзывы критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что специалисты указанных организаций являются известными и признанными учеными данной отрасли медицины, что подтверждается наличием соответствующих научных публикаций, размещенных на сайте: <http://www.ksma.ru>.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: **разработана** научная идея целесообразности применения мелатонина в комплексной терапии экспериментального сахарного диабета; **предложен** оригинальный подход к оценке индивидуальной чувствительности

к диабетогенному действию аллоксана при экспериментальном моделировании сахарного диабета; **доказано** плеiotропное действие разных доз мелатонина на выраженность биохимических и гистологических сдвигов в организме, индуцированных аллоксаном; **введено** новое представление о реципрокных отношениях между энергетическими процессами в печени и поджелудочной железе.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: **доказаны** положения, расширяющие представление о влиянии мелатонина на регуляцию деятельности поджелудочной железы и поддержание энергетического гомеостаза организма; **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс существующих базовых биохимических, физиологических, гистологических методов исследования; **изложены** доказательства использования домена А сукцинатдегидрогеназы, как сайта воздействия новых противодиабетических средств; **раскрыты** возможные пути противодиабетического действия мелатонина как на клеточном уровне (антиоксидантная активность), так и на системном уровне; **изучена** причинно-следственная связь продуцирования энергии, необходимой для поддержания энергетического баланса в организме в эксперименте; **проведена модернизация** оценки параметров в изменении биоэнергетики клетки при развитии сахарного диабета и применении мелатонина.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: **разработан и внедрен** новый подход для визуализации и количественной оценки взаимодействия мелатонина и сукцинатдегидрогеназы; **определены** перспективы дальнейшей разработки использования гормона мелатонина у больных сахарным диабетом; **создана** схема эффективного использования мелатонина в лечении экспериментального диабета; **представлены** рекомендации о путях совершенствования эффективности терапии сахарного диабета.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: **теория** диссертации построена на достоверных, проверяемых фактах и согласуется с опубликованными современными данными по теме диссертации; **идея** базируется на

анализе клинической и лабораторной медицинской практики, а также обобщении передового опыта специалистов в области биохимии; **использованы** современные методы исследования, общепризнанные в мировой и отечественной науке; **установлено** качественное и количественное соответствие авторских результатов с представленными в независимых источниках по данной тематике; **использованы** современные методики сбора, обработки первичной информации и анализа полученных данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и проведении всех этапов исследования, включая обработку и интерпретацию полученных лабораторных данных, подготовку основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и вопросы:

1. Какие экспериментальные факты подтверждают высокий темп работы цикла трикарбоновых кислот в печени по сравнению с поджелудочной железой?

2. Что свидетельствует в пользу комплексообразования мелатонина с ФАД – зависимой сукцинатдегидрогеназой?

3. Планируете ли Вы зарегистрировать полученные результаты по действию мелатонина в виде авторского права на интеллектуальную собственность?

4. Пожалуйста, объясните, исходя из ваших модельных экспериментов (молекулярный докинг и конформационный анализ), если мелатонин является конкурентным ингибитором сукцината, что приводит к снижению активности сукцинатдегидрогеназы в печени то, как это связано с нормализацией активности сукцинатдегидрогеназы у диабетических животных на фоне применения мелатонина? И как это интерполировать на процессы, происходящие в поджелудочной железе?

5. Объясните более подробно: на основании, каких фактических данных был сделан вывод о взаимодействии сукцинатдегидрогеназы и мелатонина? Для чего, с нашей точки зрения, было бы необходимо представить PDF – file каждого

участника и соответственно PDF – file – результат.

6. В автореферате и рукописи диссертации автором указано, что впервые при экспериментальном диабете наблюдается активация только митохондриальной сукцинатдегидрогеназы, что вероятно, связано с более высоким темпом работы цикла трикарбоновых кислот в печени, но не в поджелудочной железе. В связи с этим закономерно возникает вопрос по применению в данном случае формулировки "активация только митохондриальной сукцинатдегидрогеназы...".

7. Безусловным достоинством работы являются результаты, полученные с применением молекулярного докинга. Взаимодействие мелатонина с сукцинатдегидрогеназой может привести к блокированию каталитического домена SDHA субъединицы по данным, полученным в исследовании. На этом основании в выводе 5 указано, что введение мелатонина приводит к нормализации активности сукцинатдегидрогеназы через блокирование А домена фермента. Какой механизм нормализации активности сукцинатдегидрогеназы, достоверно сниженной при аллоксановом диабете, под влиянием мелатонина?

Соискатель Биджиева Ф.А. убедительно ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы, согласилась со всеми замечаниями и привела собственную аргументацию по следующим:

1. Фактом, подтверждающим высокий темп работы цикла трикарбоновых кислот в печени по сравнению с поджелудочной железой, является изменение (увеличение) активности сукцинатдегидрогеназы после введения аллоксана. В поджелудочной железе, наоборот, наблюдается снижение активности данного фермента. Известно, что содержание митохондрий в островковых клетках поджелудочной железы очень низкое. Митохондриальная сукцинатдегидрогеназа выполняет двойную функцию в энергоснабжении митохондрий: 1) фермент входит в дыхательную цепь (так же известен как комплекс II) 2) катализирует окисление сукцината до фумарата в цикле Кребса. Введение аллоксана, нарушает целостность β -клеток и как следствие наблюдается резкое снижение активности сукцинатдегидрогеназы. А в результате гибели β -клеток островков Лангерганса, в поджелудочной железе идет снижение активности цикла три-

карбоновых кислот, при этом не вырабатывается пороговая величина АТФ, и нарушается энергообеспеченность клетки. В печени, в отличие от поджелудочной железы, нарушение утилизации глюкозы приводит к активации процессов распада липидов и белков, образующих продукты для активации цикла трикарбоновых кислот, которое мы и наблюдаем в виде повышения активности сукцинатдегидрогеназы.

2. В результате докинг анализа были получены пространственно-энергетические параметры комплексообразования. Была рассчитана свободная энергия Гиббса комплекса мелатонин-сукцинатдегидрогеназа. На основе энергии определялась константа связывания комплексообразования и построена конформационная карта взаимодействия. В результате были получены аминокислотные остатки, вовлеченные в процесс комплексообразования.

3. Да, мы сейчас на стадии подготовки документации для оформления патента.

4. Адаптация организма в условиях аллоксанового диабета осуществляется на нескольких уровнях. Аллоксан, разрушая бета клетки поджелудочной железы, провоцирует гипоэнергетическое состояние. Нарушается процесс окислительного фосфорилирования, и клетки поджелудочной железы не могут создать пороговую концентрацию АТФ, это приводит к нарушению высвобождения инсулина, развивается гипергликемия. С другой стороны, в печени для компенсации гипоэнергетического состояния наблюдается активация так называемого белка ChREBR (белок связывающий элемент углеводного обмена) который реагирует на глюкозу и является фактором транскрипции. Данный белок содержит участок из 5 доменов, реагирующих на глюкозу. Если содержание глюкозы низкое, наступает активация 1-4 домена, повышенное содержание глюкозы способствует активации 5 домена, который дефосфорилирует белок, а тот в свою очередь активирует гены, кодирующие гликолитические ферменты. К таким генам относится и ген сукцинатдегидрогеназы. В условиях аллоксанового диабета, в печени у крыс, наблюдается увеличение активности сукцинатдегидрогеназы, это свидетельствует об идентификации функционировании цикла

Кребса в условиях аллоксанового диабета, что, по-видимому, необходимо в клеточном дыхании и усилении поставок НАДН для адаптации клеточного метаболизма в гепатоцитах. Сукцинатдегидрогеназа – это единственный фермент, участвующий как в цикле трикарбоновых кислот, так и цепи переноса электронов, и способствует энергизации метаболизма. Экзогенный мелатонин блокируя домен А сукцинатдегидрогеназы снижает гиперреактивность фермента в печени, а в поджелудочной железе своими специфическими рецепторами (MP1 и MP2), расположенные на поверхности мембраны β - и α -клеток как грызунов, так и человека оказывает прямое вмешательство в функцию клеточных элементов островков Лангерганса, восстанавливая их. Таким образом, следует признать, что мелатонин является адаптационным гормоном, который участвует в координации и синхронизации различных метаболических процессов.

5. Экспериментальная часть работы по молекулярному моделированию взаимодействия мелатонина и сукцинатдегидрогеназы выполнялась в лаборатории структурной биоинформатики Института биомедицины и фармации Российско-Армянского университета "Славяновский". С помощью молекулярного докинга находилось такое положение лиганда, в котором свободная энергия образования комплекса белок-лиганд (в нашем случае мелатонин-сукцинатдегидрогеназа) была минимальной. Что нужно для проведения моделирования? 3D структура белка (сукцинатдегидрогеназы) и лиганда (мелатонина)). В нашем случае структуру мелатонина брали из базы dragbank, а сукцинатдегидрогеназы – Protein Data Bank – PDB. Для анализа 3D структуры были использованы специальные программы пакеты.

6. Я соглашусь с Вашим замечанием. Возможно не совсем удачная формулировка. Хотелось указать, что только в печени наблюдается активация фермента, но не в поджелудочной железе.

7. Аллоксан приводит к селективному разрушению β -клеток в поджелудочной железе и индуцирует образование активных форм кислорода, так как β -клетки обладают низкой антиоксидантной способностью и очень восприимчивы к окислительному стрессу. Мелатонин в фармакологических дозах (в нашем

случае 1 мг/кг) обеспечивает защиту от активных форм кислорода, выступая в роли "ловушки радикалов". Однако, механизм действия мелатонина до сих пор до конца не изучен. Наиболее вероятным считается нейтрализация свободных радикалов передачей электрона от молекулы мелатонина к активному радикалу. Другой путь – через свои клеточные рецепторы инозитол – три – фосфат (IP3). (IP3), активируя фосфолипазу С мобилизует ионы кальция из внутриклеточных хранилищ и приводят к увеличению секреции инсулина. Восстанавливается функция поджелудочной железы. В печени же через блокирование мелатонина домена А сукцинатдегидрогеназы восстанавливается активность цикла трикарбоновых кислот.

На заседании 21.09.2021 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной задачи, имеющей важное значение для развития биохимии и эндокринологии – повышение качества оказания помощи при сахарном диабете, – присудить Биджиевой Ф.А. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 4 доктора наук по специальности рассматриваемой диссертации 1.5.4. Биохимия, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета 21.2.014.02,
доктор медицинских наук
профессор

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02,
доктор медицинских наук
профессор

21.09.21



Быков
Илья Михайлович

Лапина
Наталья Викторовна