

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника
Военно-медицинской академии
по научной работе
доктор медицинских наук доцент

Е.В. Ивченко



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации о научно-практической значимости диссертации Войновой Ирины Витальевны на тему «Особенности параметров метаболизма железа при хронической гипергликемии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия

Актуальность темы

Увеличение среди населения развитых стран числа больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа) является серьезной проблемой, в патогенезе которого сложно переоценить роль инсулинорезистентности и хронической гипергликемии. Помимо ухудшения качества жизни, высокого риска развития инфекций и трофических язв, к осложнениям сахарного диабета 2 типа относят нейродегенерацию сетчатки и нарушение регуляции обмена железа. Если определение гликированного гемоглобина является «золотым стандартом» при верификации хронической гипергликемии, а также оценки достижения гликемического контроля у больных СД 2 типа в оценке эффективности лекарственной терапии и ее выбора, то своевременная диагностика нарушений обмена железа в условиях сахарного диабета остается нетривиальной задачей для биохимической диагностики. Последнее обстоятельство вызвано противоречивыми данными о механизмах, приводящих к нарушениям обмена железа при гипергликемии. Учитывая влияние гипергликемии на течение иммунных реакций, включая развитие и разрешение воспаления, а также связь между воспалением и обменом железа, следует заключить, что подготовленная Ириной Витальевной Войновой диссертация посвящена актуальной теме. Изученные автором особенности обмена железа при различной выраженности хронической гипергликемии позволили заключить, что при гликировании медь-содержащего фермента, церулоплазмينا, нарушается опосредованное его активностью

встраивание железа в трансферрин. Более того, компенсаторное увеличение концентрации трансферрина в ответ на неэффективное насыщение железом маскирует снижение его железо-связывающей способности. Последнее, судя по представленным в диссертации результатам, затруднительно оценить с помощью традиционного анализа общей железо-связывающей способности в образцах сыворотки крови. Понимание механизмов нарушения обмена железа, обусловленного гипергликемией, может быть полезно как для усовершенствования критериев своевременного выявления таких нарушений при СД 2 типа, так и для разработки подходов к комплексной сахароснижающей терапии с учетом вклада в патологический процесс дисрегуляции обмена железа.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна диссертационного исследования Ирины Витальевны Войновой обусловлена системным анализом различий биохимических параметров, характеризующих выраженность хронической гипергликемии, у доноров без гипергликемии и пациентов с СД 2 типа, а также выявлением их корреляционных связей с показателями обмена железа, в том числе эффективностью катализируемого церулоплазмином встраивания железа в трансферрин. Впервые показано, что сильная отрицательная корреляция концентрации железа с концентрацией трансферрина, характерная для доноров без нарушений обмена железа, в группе пациентов с гипергликемией сменяется положительной корреляцией. Автором впервые проведен анализ влияния гликирования на свойства участников обмена железа *in vitro*, а также впервые однозначно доказано отсутствие физического взаимодействия между церулоплазмином и трансферрином. Впервые выполнен анализ нарушений обмена железа, выявленных при СД 2 типа, являющихся аналогичными показателям, изученным при моделировании стрептозотоцин- индуцированной гипергликемии у крыс. Это позволило обосновать применение рекомбинантного лактоферрина для коррекции осложнений экспериментальной гипергликемии у крыс *in vivo*.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов

Диссертационное исследование Войновой Ирины Витальевны выполнено с использованием современных методов биохимии и экспериментальной эндокринологии, адекватных решению поставленных задач. Результаты получены с использованием достаточного объема выборки и независимых измерений. Достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, основана на адекватном

статистическом анализе результатов исследования с помощью критериев, характеризующих межгрупповые различия данных, а также достоверность рассчитанных значений коэффициентов корреляций и различий коэффициентов в уравнениях, полученных при регрессионном анализе.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Значимость полученных результатов для науки состоит в дополнении знаний о механизмах развития осложнений СД 2 типа, обусловленных нарушением катализируемой церулоплазмином загрузки железа в трансферрин при гипергликемии. Последнее приводит к компенсаторному повышению концентрации трансферрина, что осложняет своевременную диагностику нарушений обмена железа.

Практическое значение полученных в диссертационном исследовании результатов заключается в обосновании принципиальной возможности использования отношения общей железо-связывающей способности сыворотки к концентрации трансферрина и отношения концентрации железа к концентрации трансферрина для диагностики нарушения обмена железа при гипергликемии. Проведенное в работе сравнение антигипергликемического эффекта при различных схемах введения рекомбинантного лактоферрина крысам при экспериментальной гипергликемии может послужить основой для создания комплексных антигипергликемических препаратов с учетом вклада нарушений регуляции обмена железа в развитие осложнений СД 2 типа.

Рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Результаты проведенного исследования и его выводы рекомендуется использовать для более детального исследования диагностической значимости снижения железо-связывающей способности сыворотки, нормированной на трансферрин, и ферроксидазной активности церулоплазмина для ранней диагностики нарушений обмена железа при СД 2 типа и метаболическом синдроме. Данные об антигипергликемическом эффекте рекомбинантного лактоферрина могут быть использованы в исследовательской работе научных коллективов, занимающихся экспериментальной эндокринологией и гематологией, таких как ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Институт эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Центр эндокринологии Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, ФГБУ РосНИИ Гематологии и трансфузиологии

ФМБА России, НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева.

Личный вклад автора

Личный вклад Ирины Витальевны Войновой подтвержден подготовкой достаточного количества статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах, 3 из которых — статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 — в журнале, входящем в международные базы Scopus и Web of Science. Автор непосредственно проводила все основные этапы диссертационного исследования: анализировала литературу по теме работы, планировала эксперименты, проводила экспериментальную часть работы и статистическую обработку полученных данных, а также их интерпретацию и обоснование выводов. Материалы диссертационного исследования представлены Ириной Витальевной на 8 симпозиумах и конференциях в виде устных и постерных докладов.

Количество печатных работ

По теме диссертационной работы было опубликовано 12 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, 3 из которых — статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 — в журнале, входящем в международные базы Scopus и Web of Science, 8 тезисов в сборниках научных трудов по материалам конференций.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 192 страницах, содержит 10 таблиц и 19 рисунков, состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Выводы», «Заключение», «Список сокращений», «Список литературы», включающий 485 источников, из них — 8 отечественных, и «Приложение». Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации и отражает суть полученных результатов.

В разделе «Введение» сформулированы актуальность и степень разработанности темы исследования, его научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, положения, выносимые на защиту; указана информация об апробации полученных результатов, а также личном вкладе соискателя в работу.

В разделе «Обзор литературы» приведены современные данные научной литературы о метаболизме железа, механизмах патогенеза СД 2 типа, а также их связи с

обменом железа. Главу завершает обобщение данных о протективном потенциале лактоферрина для коррекции гипергликемии.

В разделе «Материалы и методы» приведено подробное описание более 30 биохимических и иммунохимических методов анализа параметров, характеризующих гипергликемию, обмен железа, меди, холестерина, а также активность антиоксидантных ферментов эритроцитов; критериев включения и исключения при формировании групп доноров, образцы крови которых были исследованы в работе; методов анализа физико-химических свойств белков и их взаимодействий; методов выделения белков, участвующих в обмене железа, из крови доноров и лабораторных крыс; способов моделирования экспериментальной гипергликемии у крыс и введения рекомбинантного лактоферрина с целью ее коррекции; обработки данных с помощью методов дисперсионного, регрессионного и корреляционного анализа.

В разделе «Результаты и их обсуждение» автор описывает результаты сравнения параметров обмена железа, меди и холестерина при разделении выборки образцов крови, полученной от 364 доноров, на три группы по выраженности гипергликемии (уровню гликированного гемоглобина) – здоровые доноры, пациенты с «компенсированным» СД2 типа и пациенты с «некомпенсированным» СД 2 типа. Помимо дисперсионного анализа проведен регрессионный анализ связей параметров обмена железа и меди, а также подробный корреляционный анализ многочисленных биохимических показателей, визуализация которого вынесена в раздел «Приложение». Наиболее выраженные нарушения при гипергликемии были показаны для удельной железо-связывающей способности трансферрина и для ферроксидазной активности церулоплазмينا. Последнее нарушение находилось в соответствии с достоверным снижением числа ионов меди на одну молекулу фермента у пациентов с гипергликемией. Эти данные послужили предпосылкой для проверки влияния гликирования *in vitro* на способность церулоплазмينا осуществлять ферроксидазную реакцию и на способность трансферрина встраивать окисленное железо. Приведено доказательство отсутствия физического взаимодействия церулоплазмينا и трансферрина, в отличие от лактоферрина, образующего прочный комплекс с ферроксидазой. Выполнено сравнение соответствия показателей нарушения обмена железа, обнаруженных при анализе образцов от доноров, с параметрами обмена железа у крыс при моделировании индуцированной стрептозотоцином гипергликемии. Ввиду снижения активности одного из ключевых антиоксидантов плазмы крови, автор использовала для коррекции гипергликемии рекомбинантный лактоферрин в трех вариантах его введения животным в эксперименте.

Антигипергликемический эффект лактоферрина сопровождался коррекцией активности церулоплазмينا, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и концентрации SH-групп.

Диссертационная работа Войновой И.В. является законченным научным трудом, позволившим обобщить полученные результаты в заключении и пяти выводах, которые полностью соответствуют цели и задачам исследования. В разделе «Заключение» автор емко формулирует концепцию изменений функционирования участников обмена железа при гликировании, в которой основной мишенью для фармакологической коррекции становится сниженная ферроксидазная активность церулоплазмينا. Обоснован подход, позволяющий корректно оценить снижение железо-связывающей способности трансферрина и своевременно выявить нарушения регуляции обмена железа при ИНСД. Сформулировано объяснение способности рекомбинантного лактоферрина корректировать гипергликемию за счет воздействия на активность ферроксидазы и транскрипционного фактора Nfr2, отвечающего за адаптацию к окислительному стрессу.

Замечания, вопросы и пожелания по диссертации

Принципиальных замечаний к изложенным в диссертации результатам, их интерпретации и сформулированным выводам не возникло.

Вместе с тем работа не лишена некоторых недочетов и не свободна от некоторых терминологических неточностей, как то:

1. Трудно согласиться с активно используемым в диссертации и автореферате понятием «антигликемический» эффект, поскольку под гликемией понимают само по себе содержание глюкозы в крови, причем чаще всего ее имеется ввиду нормальная концентрация (в отличии от гипер-, или гипогликемии). Поэтому в контексте диссертации более корректно звучал бы термин антигипергликемический;
2. С 2011г. в диабетологии перестали применяться термины компенсация или декомпенсация углеводного обмена и были заменены на «достижение» или «не достижение» целевых показателей углеводного обмена. Связано это с тем, что в зависимости от возраста, наличия атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний и/или риска тяжелой гипогликемии уровень HbA1c < 8,5% у самых скомпрометированных пациентов может быть целевым, а вовсе не некомпенсированным, как указано в группе 3 (имеющих HbA1c 8,33±0,2) (глава 3 «Результаты и их обсуждение», таблица 1). Предположив по полученным результатам, что пациенты группы 3 не имеют сердечно-сосудистых событий в анамнезе, решением подобной проблемы могло бы стать

применение более корректных названий групп пациентов: «достигающих целей гликемического контроля» и «не достигающих...».

3. Таким образом, еще одним упущением является отсутствие в диссертации описания характеристик пациентов с СД 2 типа, поскольку широкий диапазон возрастов, наличие осложнений и длительность диабета могли обусловить серьезную внутригрупповую гетерогенность выборки больных и снизить возможность межгруппового сопоставления изучаемых показателей.

Вместе с тем высказанные замечания не снижают достоинств диссертационной работы И.В. Войновой, ее основные положения полно раскрыты в автореферате и публикациях диссертанта.

Заключение

Диссертационная работа И.В. Войновой на тему «Особенности параметров метаболизма железа при хронической гипергликемии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для биохимии – расшифровку механизмов нарушения регуляции обмена железа при гипергликемии, полученную при всестороннем анализе биохимических показателей у доноров и при моделировании гипергликемии *in vivo* и *in vitro*. Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), а ее автор Ирина Витальевна Войнова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры 1 кафедры (терапии усовершенствования врачей) ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, протокол заседания № 8 от 7 ноября 2023 года.

Доктор медицинских наук, профессор начальник 1 кафедры и клиники (терапии усовершенствования врачей) им. академика Молчанова, нештатный главный эндокринолог Министерства Обороны Российской Федерации

Салухов Владимир Владимирович

Подпись доктора медицинских наук профессора Салухова В.В. заверяю.

Начальник отдела (организации научной работы и подготовки научно-педагогических кадров) ФГБВОУ ВО "Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова" МО РФ

кандидат медицинских наук доцент

Д.В. Овчинников

Реквизиты учреждения:

Федеральное государственное бюджетное военное учреждение высшего образования
«Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской
Федерации

Почтовый адрес: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6 лит. Ж.

Телефон: +7-812-229-32-73

E-mail: vmeda-nio@mil.ru