

УТВЕРЖДАЮ  
Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института  
биологии Карельского научного центра  
Российской академии наук, чл.-корр. РАН,  
д.б.н., проф.   
Н.Н. Немова  
« 24 » августа 2015 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН) на диссертационную работу Алисултановой Надежды Жафаровны на тему: «Влияние производных 1,3,4-тиадиазина на активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени млекопитающих», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

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

Работа Н.Ж. Алисултановой направлена на решение одной из фундаментальных медико-биологических проблем – изучению механизмов адаптации млекопитающих к особым или экстремальным условиям (дефицит кислорода), а также разработке методов, позволяющих повысить устойчивость организма к пребыванию в таких условиях. Человек, как и многие неадаптированные к гипоксии млекопитающие не способен резко снижать уровень метаболизма в условиях гипоксии. В связи с этим поиск безопасных химических соединений, способных с меньшими трудностями формировать гипометаболические состояния у млекопитающих, является актуальным не только с теоретической, но и с практической точек зрения.

Одним из клеточных механизмов развития гипометаболизма является снижение митохондриальных процессов энергообразования, где в покое генерируется до 2/3 необходимой энергии для чего используется до 90% поступающего в организм кислорода. Центральным звеном энергетического метаболизма клетки выступают ферментные системы электрон транспортной цепи и цикла Кребса митохондрий. Одним из таких ферментов является сукцинатдегидрогеназа (СДГ), которая является единственным митохондриальным ферментом, который участвует, как в реакциях цикла Кребса, где катализирует окисление сукцината до фумарата, так и в переносе электронов в составе комплекса II дыхательной цепи митохондрий. Регулируя активность СДГ можно корректировать характер протекания метаболических процессов в клетке с целью приспособления организма к условиям окружающей среды.

### **Научная новизна и достоверность исследования.**

Автором впервые выявлена способность производных 1,3,4-тиадиазина ингибировать активность СДГ митохондрий печени млекопитающих в условиях *in vitro*. В результате скрининга тиadiaзиновых соединений обнаружены вещества с минимальным и максимальным ингибирующим эффектом на активность фермента. Установлен характер влияния структуры тиadiaзиновых соединений на степень их воздействия на СДГ митохондрий печени экспериментальных животных. Определены возможные участки молекулы производных 1,3,4-тиадиазина, отвечающие за их физиологическую активность. Расширены данные об активности СДГ митохондрий печени млекопитающих в зависимости от возраста и вида животного.

**Достоверность** полученных Алисултановой Н.Ж. научных результатов обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, четким определением темы, цели и задач исследования, применением адекватных физиолого-биохимических методов, корректного математического анализа. Статистическую обработку полученных данных осуществляли, используя компьютерную программу «Statistica 8.0». Значимость различий оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса с последующим использованием метода Дана. Материалы диссертационного исследования прошли верификацию на двух научных конференциях и при публикации 2 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

### **Значимость для науки и практики.**

Полученные результаты расширяют знания о химических соединениях, способных влиять на метаболические пути клетки, которые могут быть использованы с целью сохранения жизнеспособности организма в неблагоприятных условиях среды – при существенном снижении поступления в организм кислорода. Практическое значение работы заключается в том, что обеспечена начальная база в области разработки и тестирования фармакологических препаратов с гипометаболическим эффектом на основе новых производных 1,3,4 – тиadiaзина. Автором предложена и обоснована работоспособная модель для исследований подобного рода.

### **Структура и содержание работы.**

Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, главы результатов исследования и их обсуждения, общих выводов по работе. Список цитируемой

литературы включает 40 отечественных и 172 иностранных источника. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 12 таблицами, изложена достаточно хорошим профессиональным и литературным языком. Автореферат и публикации достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Во введении автором сформулированы актуальность и научная новизна, цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту, а также приведены сведения об апробации работы и той финансовой поддержке, благодаря которой стало возможным выполнение исследований.

Первая глава работы посвящена обзору литературы по рассматриваемой проблеме и состоит из трех разделов, содержащих сведения о строении, роли, особенностях функционирования сукцинатдегидрогеназы животных. Последний раздел этой главы посвящен биологической активности производных класса 1,3,4-тиадиазина.

В главе 2 «Методы и объекты исследования» дана подробная характеристика объектов исследования (четыре вида млекопитающих), а также применявшихся методик - выделение митохондриальной фракции из печени млекопитающих, инкубации митохондрий печени экспериментальных животных с производными 1,3,4-тиадиазина, определение активности СДГ в митохондриях печени млекопитающих и применявшихся методов статистического анализа.

В главе 3. «Результаты исследования» автор приводит собственные данные по межвидовым различиям в активности СДГ нативных митохондрий печени млекопитающих четырех видов, возрастным различия активности СДГ нативных митохондрий печени крыс, а также влиянию производных 1,3,4-тиадиазина на активность СДГ нативных митохондрий печени млекопитающих.

В главе 4. «Обсуждение результатов» сделано грамотное обсуждение полученных результатов и их интерпретация. Видовые и возрастные изменения активности СДГ автор связывает с различиями в потреблении организмом кислорода. Сравнительный анализ структуры и степени воздействия на СДГ исследуемых веществ привел автора к закономерному выводу о том, что именно присутствие в структуре тиадиазиновых соединений производного морфолина обуславливает максимальное ингибирующее действие на активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени млекопитающих, а на на степень ингибирующего эффекта производных 1,3,4-тиадиазина оказывает влияние характер заместителя в 5-м положении тиадиазинового кольца.

Заключение и выводы вытекают из изложенного в диссертации материала.

Как и к любой, большой работе к диссертации Н.Ж. Алисултановой имеется ряд **вопросов и замечаний**, как общего, так и более частного характера.

1. На наш взгляд собственные результаты в диссертации логичнее было бы изложить в той последовательности, в которой проведено обсуждение и как они изложены в автореферате.

2. В работе имеются грамматические и стилистические погрешности, литература не всегда оформлена по ГОСТу. В подрисуночных подписях дается полное библиографическое описание источника (оно же имеется и в списке литературы).

3. Не могли ли быть полученные эффекты связаны с диметилсульфоксидом, который использовали для растворения исследуемых веществ?

4. Рисунки 8 и 11 практически одинаковые (в одном только пронумерованы углероды кольца). Один из них можно было бы убрать без вреда для смысла излагаемого материала.

5. Не понятно в сколько аналитических повторностях делались измерения? Если не в одном, то и данные по одной свинье можно было сравнивать с другими видами.

6. Крысы и кошки были разного возраста и веса, соответственно. Наблюдалась ли в группах этих животных зависимость активности СДГ от веса животного?

7. В цели и задачах отсутствует явное указание на необходимость исследования «различных видов млекопитающих» и «млекопитающих одного вида разных возрастов», хотя такое исследование проведено.

8. Если производные 1,3,4-тиадиазина действительно окажутся такими хорошими препаратами, безвредно снижающими метаболизм, то какова будет дозировка (например, для среднестатистического человека)?

9. Название раздела звучит «3.1.2. Половые различия...», а в тексте говорится об их отсутствии. На наш взгляд, если бы применили многофакторный дисперсионный анализ, то независимо от объема выборки он бы показал влияние факторов «вид», «пол», «вещество» и «возраст».

Однако все указанные замечания и недостатки не снижают общую положительную оценку диссертации, а вопросы могут послужить предметом для дискуссии или дальнейших исследований.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 03.03.01 – физиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности.

### Заключение.

По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных данных представленная работа «Влияние производных 1,3,4-тиадиазина на активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени млекопитающих» соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор – Алисултанова Надежда Жафаровна, заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Отзыв на диссертацию и автореферат составлен Илюхой Виктором Александровичем, д.б.н., доцентом, зав. лабораторией. Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании лаборатории экологической физиологии животных и утвержден Ученым советом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН), протокол №6 от 23.08.2016.

Заведующий лабораторией  
экологической физиологии животных  
ИБ КарНЦ РАН, д.б.н., доцент  
185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11  
Тел. (8124) 57-31-07  
E-mail ilyukha@bio.krc.karelia.ru

Виктор Александрович Илюха

Подпись В.А. Илюхи удостоверяю  
Ученый секретарь ИБ КарНЦ РАН, к.б.н.



Е.М. Матвеева

185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11  
Тел. (8124)76-09-10  
Факс (8124)76-98-10  
E-mail biology@krc.karelia.ru  
23.08.2016 г.

СВЕДЕНИЯ  
о ведущей организации по диссертации

Алисултановой Надежды Жафаровны

На тему: «ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,4-ТИАДИАЗИНА НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ».

На соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Полное наименование и сокращенное наименование организации	Место нахождения: почтовый адрес, телефон,	адрес электронной почты	адрес официального сайта в сети интернет	Список публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в журналах списка ВАК за последние 5 лет (не более 15 публикаций)
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН) ФАНО России	185910 Россия г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, (8142)769810	biology@krc.karelia.ru	www.bio.krc.karelia.ru	1. Узенбаева Л.Б., Трапезов О.В., Кижина А.Г., Илюха В.А., Трапезова Л.И., Тютюнник Н.Н. Влияние мутаций, затрагивающих окраску меха, на структуру лейкоцитов крови у американской норки ( <i>Mustela vison Schreber, 1777</i> ) // Генетика.– 2011.– Т. 47, № 1.– С. 87–94. 2. Узенбаева Л.Б., Кижина А.Г., Илюха В.А., Тютюнник Н.Н. Морфология и цитохимия аномальных цитоплазматических гранул в лейкоцитах крови у норок сапфирового окраса // Морфология.– 2011.– Т. 140. № 6. С. 60 - 64. 3. Ильина Т.Н., Виноградова И.А., Хижкин Е.А., Илюха В.А., Узенбаева Л.Б., Унжаков А.Р., Баишникова И.В., Кижина А.Г., Анисимов В.Н. Влияние освещения в пренатальный и постнатальный периоды на некоторые физиологические показатели самок крыс // Российский

			<p>Физиологический журнал. 2012. Т. 98. №6. С. 714-723.</p> <p>4. Лотош Т.А., Виноградова И.А., Илюха В.А., Хижкин Е.А. Влияние постоянного освещения на физиологические и биохимические показатели гомеостаза крыс в зависимости от времени начала воздействия // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.— 2013. — Т. 99, №6. — С. 719–728.</p> <p>5. Uzenbaeva L.V., Vinogradova I.A., Kizhina A.G., Prokorenko O.A., Malkiel A.I., Goganski A.I., Larinski S., Ilukha V.A. Influence of Melatonin on Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Mammalian Blood Depending on Age of the Animal // <i>Advances in Gerontology</i>.— 2013.— Vol. 3, No. 1.— P. 61–66.</p> <p>6. Sergina S., Vaishnikova I., Ilukha V., Lis M., Larinski S., Niedbala P., Barabasz V. Comparison of the antioxidant system response to melatonin implant in raccoon dog (<i>Mustelupes procyonoides</i>) and silver fox (<i>Vulpes vulpes</i>) // <i>Turk J Vet Anim Sci.</i>- 2013.- V. 37, N 6. P. 641 – 646. doi:10.3906/vet-1302-48</p> <p>7. Морозов А.В., Хижкин Е.А., Свечкина Е.Б., Виноградова И.А., Илюха В.А., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. Влияние геропротекторов на возрастные изменения активности протеолитических пищеварительных ферментов при различных режимах освещения // <i>Бюллетень экспериментальной биологии и медицины</i>. 2015. Т. 159, № 6. С. 736-739.</p> <p>8. Sergina S., Antonova E., Ilukha V., Larinski S., Lis M., Niedbala P., Uzhakov A., Velkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hydroxia/geoxygenation in semiaquatic rodents // <i>Comparative Biochemistry and Physiology</i>, Part B 2015. Vol. 190. P. 37-45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012.</p> <p>9. Узенбаева Л.В., Белкин В.В., Илюха В.А., Кижкина А.Г., Якимова А.Е. Особенности состава и морфологии клеток периферической крови у трех видов летучих мышей Карелии в период зимней спячки // <i>Журнал эволюционной биохимии и</i></p>
--	--	--	---

				<p>физиологии. 2015. Т. 51, №4. С. 299-304.</p> <p>10. Узенбаева Л. Б., Кижина А. Г., Илюха В. А. Морфологические особенности гранул нейтрофилов и эозинофилов у норок сапфирового окраса // Цитология. 2015. Т. 57, №10. С. 736-741.</p> <p>11. Пулукха В., Антонова Е., Велкин В., Узенбаева Л., Khizhkin E., Sergina S., Пулина Т., Vaishnikova I., Kizhina A., Yakimova A. The eco-physiological status of hibernating bats (Chiroptera) in the north of the European distribution range // Acta Biol. Univ. Daugavp. 2015. Vol. 15, N1. P. 75 – 94.</p>
--	--	--	--	--

Зав. лаб. экологической физиологии  
животных ИБ КарНЦ РАН  
Д.б.н., доцент



Виктор Александрович Илюха

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук  
(ИБ КарНЦ РАН)  
ул. Пушкинская, 11  
185910, Петрозаводск, Россия  
Тел. (8124)57-31-07  
E-mail ilukha@bio.krc.karelia.ru  
20.07.2016



Подпись В.В. Миски  
Удостоверенный ведущий документовед  
ИБ КарНЦ РАН  
« 10 » июля 2016 г.  
Е.В. Фомина

ФАНО РОССИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ  
КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(ИБ КарНЦ РАН)

185910, Республика Карелия  
г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11  
Тел./факс: (8142) 76-98-10  
E-mail: [biology@krc.karelia.ru](mailto:biology@krc.karelia.ru)  
ОКПО 04694086, ОГРН 1021000544234  
ИНН/КПП 1001029702/100101001

от 20.07.2016 № 17441-211.5/247

на № \_\_\_\_\_

В диссертационный совет Д 004.017.02  
по защите докторских и кандидатских  
диссертаций  
при Федеральном государственном  
бюджетном  
учреждении науки Институте физиологии  
Коми научного центра Уральского отделения  
Российской академии наук

СОГЛАСИЕ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН) не возражает выступить в качестве ведущей организации по диссертации **Алисултановой Надежды Жафаровны** на тему: **«ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,4-ТИАДИАЗИНА НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Подготовка отзыва будет осуществляться в лаборатории экологической физиологии животных, на заседании которой будет обсужден и одобрен отзыв.

По теме рассматриваемой диссертации сотрудник, подписавший отзыв – Илюха Виктор Александрович, д.б.н., доцент, зав. лабораторией и коллектив организации имеют публикации за последние пять лет в журналах из списка ВАК:

1. Узенбаева Л.Б., Трапезов О.В., Кижина А.Г., Илюха В.А., Трапезова Л.И., Тютюнник Н.Н. Влияние мутаций, затрагивающих окраску меха, на структуру лейкоцитов крови у американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) // Генетика.– 2011.– Т. 47, № 1.– С. 87–94.
2. Узенбаева Л.Б., Кижина А.Г., Илюха В.А., Тютюнник Н.Н. Морфология и цитохимия аномальных цитоплазматических гранул в лейкоцитах крови у норок сапфирового окраса // Морфология.– 2011.– Т. 140. № 6. С. 60 - 64.
3. Ильина Т.Н., Виноградова И.А., Хижкин Е.А., Илюха В.А., Узенбаева Л.Б., Унжаков А.Р., Баишникова И.В., Кижина А.Г., Анисимов В.Н. Влияние освещения в пренатальный и постнатальный периоды на некоторые физиологические показатели самцов крыс // Российский физиологический журнал. 2012. Т. 98. №6. С. 714-723.
4. Лотош Т.А., Виноградова И.А., Илюха В.А., Хижкин Е.А. Влияние постоянного освещения на физиологические и биохимические показатели гомеостаза крыс в зависимости от времени начала воздействия // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.– 2013. – Т. 99, №6. – С. 719–728.
5. Uzenbaeva L.B., Vinogradova I.A., Kizhina A.G., Prokopenko O.A., Malkiel A.I., Goranskii A.I., Lapinski S., Ilyukha V.A. Influence of Melatonin on Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Mammalian Blood Depending on Age of the Animal // Advances in Gerontology.– 2013.– Vol. 3, No. 1.– P. 61–66.
6. Sergina S., Baishnikova I., Ilyukha V., Lis M., Lapinski S., Niedbala P., Barabasz B. Comparison of the antioxidant system response to melatonin implant in raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*)

and silver fox (*Vulpes vulpes*) // Turk J Vet Anim Sci.- 2013.- V. 37, N 6. P. 641 – 646. doi:10.3906/vet-1302-48

7. Морозов А.В., Хижкин Е.А., Свечкина Е.Б., Виноградова И.А., Илюха В.А., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. Влияние геропротекторов на возрастные изменения активности протеолитических пищеварительных ферментов при различных режимах освещения // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159, № 6. С. 736-739.

8. Sergina S., Antonova E., Ilyukha V., Łapiński S., Lis M., Niedbała P., Unzhakov A., Belkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hypoxia/reoxygenation in semiaquatic rodents // Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 2015. Vol. 190. P. 37-45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012.

9. Узенбаева Л.Б., Белкин В.В., Илюха В.А., Кижина А.Г., Якимова А.Е. Особенности состава и морфологии клеток периферической крови у трех видов летучих мышей Карелии в период зимней спячки // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2015. Т. 51, №4. С. 299-304.

10. Узенбаева Л. Б., Кижина А. Г., Илюха В. А. Морфологические особенности гранул нейтрофилов и эозинофилов у норок сапфирового окраса // Цитология. 2015. Т. 57, №10. С. 736-741.

11. Ilyukha V., Antonova E., Belkin V., Uzenbaeva L., Khizhkin E., Sergina S., Ilyina T., Baishnikova I., Kizhina A., Yakimova A. The eco-physiological status of hibernating bats (Chiroptera) in the north of the European distribution range // Acta Biol. Univ. Daugavp. 2015. Vol. 15, N1. P. 75 – 94.

Директор  
чл.-корр. РАН



*Handwritten signature of N.N. Nemova*

Н.Н. Немова