

**Отзыв доктора медицинских наук доцента  
Олега Александровича Нагибовича на диссертационную работу  
Байрашевой Валентины Кузьминичны  
«Влияние метформина и вилдаглиптина на морфофункциональное состояние  
почек при сахарном диабете 2 типа. Клинико-экспериментальное  
исследование», представляемую на соискание учёной степени кандидата  
медицинских наук по специальности 14.01.02 – эндокринология**

**Актуальность избранной темы**

Диабетическая нефропатия (ДН) диагностируется у 1/3 пациентов, является одной из ведущих причин, приводящих к хронической болезни почек (ХБП) 5 стадии, сочетается с сердечно-сосудистой патологией и увеличивает летальность больных сахарным диабетом (СД) 2 типа. Раннее выявление ДН и применение препаратов, обладающих ренопротективным действием, может способствовать улучшению исходов и снизить затраты на лечение этого серьезного осложнения СД. Стандартная ренопротекция включает коррекцию гипергликемии, артериальной гипертензии, дислипидемии, мембраностабилизирующую и антиоксидантную терапию, что нередко приводит к полипрагмазии и, соответственно, снижению приверженности лечению пациентов. В этой связи в последние годы уделяется большое внимание исследованию почечных эффектов препаратов, которые используются для лечения хронической гипергликемии. Выбор изучаемых в диссертационном исследовании препаратов корректно связан с препаратами первой линии лечения СД 2 типа – представителями групп бигуанидов и глиптинов (иДПП-4).

Существует мнение, что в основе ДН лежит параллельное поражение клубочков, канальцев, сосудов и интерстиция, в этой связи диссертантом корректно предложены к исследованию маркеры повреждения различных отделов нефрона. Анализ экскреции данных маркеров представляет отдельный интерес в отношении поиска более чувствительных и ранних, чем альбуминурия и снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), маркеров почечной дисфункции. Изучение влияния антигипергликемических препаратов не только на функциональное, но и на морфологическое, включая ультраструктурное, состояние нефронов в экспериментальной части работы придает диссертационному исследованию фундаментальный характер.

Автором усовершенствована и валидирована модель ДН при экспериментальном никотинамид-стрептозотоциновом СД 2 типа, что актуально и будет использовано в работах других научных коллективов.

Диссертационное исследование проводилось в рамках тем государственного задания, которое выполняло ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова».

## **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, выносимые автором в диссертационной работе, обоснованы в полной мере. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из результатов исследования, получены на основании обследования достаточного количества пациентов и лабораторных животных, базируются на адекватном дизайне и современных методах исследования в полном соответствии с поставленными задачами и целью исследования. Так, было проведено клинико-лабораторное обследование 84 пациентов с СД 2 типа, которые были отобраны в соответствии с критериями включения и исключения. Выполнено планирование эксперимента которое позволило определить необходимый объём выборок и мощность контролируемого исследования. В итоге 70 больных приняли участие в рандомизированном клиническом исследовании по оценке влияния 6-месячной терапии метформином или вилдаглиптином на динамику маркеров дисфункции почек. 26 человек без нарушений углеводного обмена и ХБП составили контрольную группу. Оценка альбуминурии у пациентов проводилась высокочувствительным методом иммунотурбидиметрии. Согласно современным рекомендациям, креатинин сыворотки определялся энзиматическим методом, стандартизованным относительно референсного интервала масс-спектрометрии с изотопным разбавлением. Исследования в иммуноферментном анализе выполнены в дублях для минимизации погрешности метода, а сбор мочи для исследования биомаркеров с целью уменьшения внутрииндивидуальных колебаний проведен дважды с интервалом 3-5 дней. Данные клинического исследования подкреплялись результатами хронического эксперимента (30 недель) на 45 крысах с применением усовершенствованной автором модели ДН при СД 2 типа, в которой были оценены все параметры, необходимые для её валидации. Результаты морфологического исследования оценивались с помощью общепринятых методик морфометрического анализа. При анализе полученных данных был использован адекватный комплекс методик, включавший параметрическую и непараметрическую статистику. Все вышеизложенное свидетельствует о том, что работа выполнена в рамках доказательной медицины и даёт основание для подтверждения высокой степени обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, представленных диссертантом.

## **Научная новизна исследования, полученных выводов и практическая значимость рекомендаций**

Научная новизна работы заключается в том, что автором разработана экспериментальная модель ДН при никотинамид-стрептозотоциновом СД 2 типа у половозрелых крыс стока Wistar, в которой, с помощью комплекса лабораторных и морфологических методик, продемонстрировано формирование как стойких

метаболических нарушений, так и морфологических и функциональных изменений почек, характерных для ранних стадий ДН.

Автор впервые сравнила нефропротективный эффект различных пероральных сахароснижающих препаратов и установила, что он реализуется на разных уровнях нефрона. Так, действие метформина обусловлено положительным влиянием на канальца почек и проявляется значимым снижением экскреции маркеров канальцевого повреждения у лабораторных животных (NGAL и KIM-1) и у больных с СД 2 типа (NGAL и L-FABP). Напротив, вилдаглиптин оказывал нефропротективный эффект на уровне клубочков почек и проявлялся уменьшением экскреции коллагена IV типа и повышением расчётной СКФ, независимо от антигипергликемического действия. Кроме того, в экспериментальной части работы было получено морфологическое подтверждение данного эффекта – значимое ослабление клубочковых изменений (мезангиальной экспансии и утолщения гломерулярной базальной мембраны) на фоне приема иДПП-4.

Несомненный интерес представляет выявленная обратная зависимость уровня экскреции NGAL и «золотым стандартом» определения СКФ по цистатину С вне зависимости от уровня альбуминурии, что указывает на тесную клубочко-канальцевую взаимосвязь в норме и при патологии, подтверждает положение о параллельном вовлечении в патологический процесс всех отделов нефрона и обосновывает необходимость комплексного воздействия на клубочки и канальцевый аппарат почек при ДН.

Автором получены новые данные, указывающие на то, что дисфункция канальцев выявляется у больных СД 2 типа без признаков поражения почек (по данным рутинных методов). Показано, что среди изученных наиболее эффективным, по оптимальному соотношению чувствительности и специфичности, маркером ранней дисфункции канальцев является NGAL. Кроме того, автор впервые определила для отечественной популяции больных СД 2 типа порог отсечения для данного биомаркера – 8,45 мкг/г креатинина. Вышеизложенное позволяет обосновать необходимость дополнительного определения NGAL даже при нормальных показателях альбуминурии и СКФ с целью ранней диагностики ХБП.

Предложенная автором усовершенствованная модель ДН у крыс безусловно имеет практическую значимость для науки и практики, поскольку относительно легко реализуема и доступна для проведения экспериментов по изучению как естественного течения ДН, так и исследований фармакологического воздействия препаратов на структурные и функциональные изменения в почках при СД.

**Полнота изложения основных результатов исследования в диссертации и**

### **в научной печати**

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, содержит 15 таблиц, 20 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов (экспериментальная и клиническая части) и заключений по ним, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы.

По материалам диссертации опубликовано 25 печатных работ, в том числе 8 статей в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, из них одна – в зарубежном издании; 17 тезисов как в отечественных (7), так и в зарубежных (10) сборниках трудов научных конференций. В приведённых публикациях полностью отражены основные опорные пункты диссертационного исследования.

### **Содержание автореферата**

Автореферат соответствует основным положениям диссертации, отражает цель и задачи исследования, выводы и практические рекомендации.

### **Внутреннее единство структуры диссертации**

Диссертационная работа изложена на 147 страницах текста и хорошо иллюстрирована графическим и табличным материалом, написана хорошим литературным языком, построена традиционно.

Для диссертационной работы В.К. Байрашевой характерны чёткая формулировка целей и задач исследования (2 по экспериментальной части и 3 – по клинической), высокий методический уровень. Положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно, имеют глубокую теоретическую и практическую значимость, обоснованы.

Во введении чётко обозначены актуальность основных проблем, решение которых автор даёт в дальнейших главах диссертации.

Глава 1, являющаяся обзором литературы, охватывает достаточный объём источников (215: 172 зарубежных и 43 – отечественная литература) и посвящена нескольким важным аспектам: современным представлениям о ДН (начиная с морфофункционального определения, факторов риска и современных эпидемиологических данных до механизмов развития и прогрессирования осложнения); рутинным способам диагностики ДН и роли новых маркеров в ранней диагностике этого осложнения СД; краткому описанию молекулярных механизмов потенциальных ренопротективных свойств метформина и вилдаглиптина с подробным изложением экспериментальных и клинических работ, относящихся к данной теме); методикам экспериментального моделирования ДН и подробному обзору существующих моделей у крыс. Автор хорошо знает изучаемую тематику, излагает материал понятно и корректно.

Глава 2 посвящена описанию материалов и методов работы, отдельно для экспериментального и клинического разделов исследования. Обращало на себя внимание описание критериев включения, не включения и исключения в проспективное клиническое исследование, адекватность выбранных биохимических показателей, морфологические методы исследования почки, включая ультраструктурный анализ. В конце главы автор поместила корректное описание всех используемых методов статистической обработки первичных данных.

В главе 3 описываются результаты экспериментальной работы, в результате чего была разработана и подробно описана модель ДН у самцов крыс стока Wistar. Было исследовано влияние назначения метформина на структурно-функциональное состояние почек у крыс с экспериментальным СД 2 типа и получены новые научные данные об эффектах препарата на маркеры повреждения канальцев. Глава завершается четким заключением, кратко описывающим основные полученные результаты по двум сформулированным экспериментальным задачам.

Глава 4 демонстрирует результаты клинического раздела диссертации. Приведена подробная клиническая характеристика больных СД 2 типа и лиц без нарушений углеводного обмена и ХБП, которые принимали участие в поперечном исследовании. Разделение пациентов на условные группы в зависимости от категории альбуминурии и уровня СКФ и сравнение результатов с участниками без СД позволило выявить мочевые маркеры повреждения почек (NGAL, L-FABP), величина которых повышается у больных СД 2 типа даже без признаков поражения почек (по рутинным показателям). В следующем разделе этой главы подробно дана клиническая характеристика 66 из 70 больных СД 2 типа, которые завершили участие в проспективном рандомизированном исследовании по влиянию добавления метформина и вилдаглиптина на 6 месяцев к получаемой ранее терапии инсулином. Автор убедительно показала, что добавление вилдаглиптина в дозе 50 мг/сут на 6 месяцев пациентам с СД 2 типа, получающих инсулинотерапию, без выраженной почечной дисфункции, улучшает клубочковую функцию почек (расчётная СКФ по цистатину С, расчётная СКФ по креатинину и цистатину С и экскреция коллагена IV типа), в то время как добавление метформина в дозе 1500 мг/сут приводит к существенному уменьшению канальцевой дисфункции, оцененной по уровню экскреции NGAL и L-FABP, независимо от сахароснижающего эффекта. Глава завершается кратким и содержательным заключением.

Глава 5 – обсуждение полученных результатов, написана, как и предыдущие главы, хорошим литературным языком, с привлечением современных источников, особое внимание уделено сравнению полученных данных по исследованию почечных эффектов метформина и вилдаглиптина с имеющимися литературными данными. Автор критически анализировала собственные данные и давала

объяснения полученных результатов с позиции современных патофизиологических представлений. Данные проведенного клинико-экспериментального исследования позволили сделать корректные выводы и обосновать практические рекомендации, которые будут полезны как практикующим специалистам, так и исследователям в области фундаментальной эндокринологии и нефрологии.

#### **Замечания по диссертационному исследованию**

В процессе ознакомления с диссертационной работой существенных замечаний не возникло, но обращало на себя внимание:

стр.21 – Опечатка «В 2012 г. была предложила формула...»

стр.23 – терминология «нормоальбуминурическая стадия ДН», в настоящее время не используется;

стр.35 – терминология «умеренная», «тяжёлая ХБП (СКФ<30 мл/мин/1,73<sup>2</sup>)», является неправильный переводом первоисточника;

стр.67 – в Табл.4 некорректно использована параметрическая статистика для описания малых выборок;

стр.95 – логическая ошибка в предложении «снижение показателей глюкозы крови при добавление метформина, ..., сопровождалось незначимым повышением на 25% [-22,2; 100,0] (p=0,41) общего числа лёгких гипогликемий». Т.к. p=0,41, то должен следовать вывод, что добавление метформина не приводило к увеличению случаев гипогликемий.

стр.105 – Опечатка «Рисунок 15», по факту – это таблица.

стр.109 – Опечатка «...13,0 [8,0; 2,0] мкг/г Кр. у здоровых...»

Хотелось бы получить ответы автора на следующие вопросы:

1. Предложенная Вами модель диабетической нефропатии характеризует только ранние стадии поражения почек при сахарном диабете 2 типа или позволяет воспроизвести выраженный гломерулосклероз с тубуло-интерстициальными изменениями, характерными для ХБП С5?
2. Почему при терапии вилдаглиптином наблюдались структурные и функциональные изменения клубочков, а лечение метформином сопровождалось только положительной динамикой биомаркеров и не приводило к морфологическим изменениям канальцев почек?

Все возникшие замечания и вопрос носят дискуссионный характер и не влияют на общую высокую оценку рассматриваемой диссертации.

#### **Заключение**

Диссертационная работа Валентины Кузьминичны Байрашевой «Влияние метформина и вилдаглиптина на морфофункциональное состояние почек при сахарном диабете 2 типа. Клинико-экспериментальное исследование» обладает явной научной новизной, дизайн клинического и экспериментального исследований и использованные методы обоснованы и адекватны поставленным

задачам. Научные положения, выносимые автором в диссертационной работе, обоснованы в полной мере. Выводы и практические рекомендации логичны, соответствуют поставленным задачам, сформулированы на основании результатов исследования и принципов доказательной медицины, что подтверждает достоверность полученных данных. В работе решается несколько задач, важных и актуальных как для практического здравоохранения (поиск маркеров доклинической диагностики диабетической нефропатии и оценка почечных эффектов метформина и вилдаглиптина), так и фундаментальной медицины (разработанная экспериментальная модель диабетической нефропатии).

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, высокому методическому уровню диссертация Байрашевой Валентины Кузьминичны «Влияние метформина и вилдаглиптина на морфофункциональное состояние почек при сахарном диабете 2 типа. Клинико-экспериментальное исследование», выполненное под руководством доктора медицинских наук, профессора Гриневой Елены Николаевны, при научном консультировании доктора медицинских наук, член-корреспондента РАН Галагудзы Михаила Михайловича является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи исследования влияния метформина и вилдаглиптина на морфологическое и функциональное состояние почек при сахарном диабете 2 типа. Работа соответствует требованиям п. 9 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а соискатель, Байрашева Валентина Кузьминична, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.02 – эндокринология.

Начальник научно-исследовательского центра

Федерального государственного бюджетного военного

образовательного учреждения высшего образования

«Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Министерства обороны Российской Федерации,

доктор медицинских наук, доцент

Олег Александрович Нагибович

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6 лит. Ж

тел. (812) 292-33-10, e-mail: olegnagibovich@mail.ru

Дата 29.01.2018.

Подпись О.А. Нагибовича заверяю,

Ученый секретарь, заведующий кафедрой патологической физиологии

Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова

доктор медицинских наук, профессор

Василий Николаевич Цыган

