

УТВЕРЖДАЮ:

Декан Биологического факультета

  
/И.А. Тихонович/

«8» апреля 2024 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Санкт-Петербургского университета по диссертации Безбородкиной Натальи Николаевны «Особенности гликогенеза в гепатоцитах при хронических заболеваниях печени», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

### Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Н.Н. Безбородкиной посвящена чрезвычайно актуальной теме — исследованию клеточных механизмов регуляции гликогенеза в гепатоцитах человека и крыс на разных стадиях пищевого цикла в норме, при патологии и при лечении поврежденной печени. Ежегодная гибель от болезней печени составляет около 4 % от всех смертей в мире. Цирроз, наряду с гепатоцеллюлярной карциномой, представляет конечную необратимую стадию хронических прогрессирующих заболеваний печени и, нередко, сопровождается сахарным диабетом 2-го типа. Цирроз печени очень трудно поддается терапии, при этом в последние десятилетия он «молодеет», поражая наиболее активную, полезную и продуктивную часть населения различных стран. Как правило, в исследованиях, посвященных обратимости хронических гепатопатологий, главное внимание обращают на морфологические изменения в печени и гораздо меньшее — на восстановление ее клеточных функций. Между тем, именно степень восстановления функциональной способности поврежденной печени является ключевым показателем обратимости заболевания. В частности, особое значение для оценки способности органа к восстановлению имеет анализ содержания и структуры гликогена, важного источника энергии для различных процессов, протекающих в гепатоцитах. Поэтому актуальность работы Н.Н. Безбородкиной, посвященной изучению механизмов нарушения метаболизма гликогена в гепатоцитах и пространственной структуры его макромолекул, а также определению компенсаторных возможностей патологически измененной печени, не вызывает сомнений.

### Научная новизна исследования

В представленной Н.Н. Безбородкиной работе впервые с помощью морфометрических, интерферометрических и цитофлуориметрических методов установлена роль полиплоидии и гипертрофии гепатоцитов в регуляции гликогенеза в

нормальной и цирротической печени крысы и человека. Автором впервые выявлено, что в отличие от крыс, репаративная регенерация печени человека в ходе развития цирроза осуществляется исключительно за счет митотических делений мелких диплоидных гепатоцитов. Автором разработан микрофлуориметрический количественный метод изучения пространственной структуры молекул гликогена в отдельных клетках паренхимы печени. Исследования, проведенные с помощью этого оригинального метода были пионерскими и позволили установить: несмотря на сходство морфологических и функциональных изменений при циррозе печени у человека и крыс, структура бета-частиц гликогена и их метаболизм принципиально различны; в отличие от молекул гликогена человека, молекулы гликогена крыс обладают меньшим размером, меньшей степенью заполнения их ярусов остатками глюкозы, а также меньшим расстоянием между цепями остатков глюкозы, т.е. более плотной их упаковкой. Новый метод позволил также впервые провести оценку пространственной структуры молекул гликогена в гепатоцитах в ходе реабилитации цирроза печени у крыс и человека. Автором впервые показано влияние коморбидности цирроза печени и сахарного диабета 2-го типа на содержание гликогена в гепатоцитах человека. Впервые выдвинуто предположение о возможной роли содержания гликогена в гепатоцитах как маркера ранней диагностики и прогноза гепатоцеллюлярной карциномы.

#### **Личное участие автора в получении результатов**

Вся экспериментальная работа проводилась Н.Н. Безбородкиной самостоятельно, либо совместно с коллегами и учениками (исследование терапевтических эффектов метформина на трансгенных гомозиготных мышах линии OE-NPY<sup>DbH</sup>; анализ митохондрий в первичной культуре гепатоцитов крыс) при непосредственном участии автора. Определение цели, задач и плана исследований диссертационной работы, сбор материала, интерпретация и статистическая обработка представленных в диссертации результатов осуществлены соискателем самостоятельно. В публикациях по теме диссертации Н.Н. Безбородкина или является первым автором, или внесла преобладающий вклад в их подготовку.

#### **Достоверность и надежность результатов исследования**

Диссертационная работа выполнена на самом высоком методическом уровне с использованием современных, широко апробированных, информативных и адекватных поставленным задачам методов. Достоверность полученных результатов обеспечена большим объемом экспериментального и клинического материала, тщательно разработанной схемой опытов и релевантными методами статистического анализа.

Все десять выводов работы, логично вытекают из основных материалов диссертации, основываются на глубоком анализе и обобщении полученных результатов и отражают суть проведенных исследований.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы состоит в том, что ее результаты, прежде всего, важны для понимания механизмов нарушения метаболизма гликогена и структуры его молекул при хронических поражениях печени. Несмотря на кардинальную перестройку структуры цирротической печени, содержание гликогена в клетках ее паренхимы, как и в норме, пропорционально дозе генов. В нормальной печени способность гепатоцитов

запасать гликоген зависит от размера и массы клеток, в то время как при циррозе подобная зависимость отсутствует. Полученные данные, с одной стороны, свидетельствуют о сохранении нормальной регуляции процессов транскрипции и трансляции в патологически измененном органе, а с другой, указывают на то, что посттрансляционные механизмы при циррозе значительно нарушены. Следствием этих нарушений является значительное увеличение концентрации гликогена, изменение его структуры и метаболизма в гепатоцитах цирротической печени. Степень увеличения содержания гликогена в клетках на фоне прогрессии хронического гепатита является показателем тяжести поражения печени. Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание гликогена в гепатоцитах при диабете 2-го типа увеличено. Тестирование различных способов терапии цирроза печени показало, что ведущим фактором улучшения архитектоники и функции патологически измененного органа является устранение патогенного фактора.

В практическом отношении, наряду с традиционными критериями, содержание гликогена в гепатоцитах, наличие или отсутствие корреляции между размером гепатоцитов и содержанием в них гликогена, соотношение прогликогена и макрогликогена в клетках могут использоваться для более точного прогноза заболевания, служить показателями степени поражения печени при циррозе и компенсированности патологического процесса в органе. Заключение о том, что коморбидность цирроза печени и сахарного диабета 2-го типа не приводит ни к аддитивному, ни к синергическому эффектам может быть важным для диагностики, профилактики и стратегии лечения этих заболеваний. Практическая значимость работы заключается также в возможном применении разработанного микрофлуориметрического метода для анализа пространственной структуры молекул гликогена в отдельных клетках различных видов животных, что представляет определенный интерес как с точки зрения их эволюции, так и физиологии.

Результаты проведенного исследования вошли в научно-практическое руководство для врачей-специалистов и успешно внедрены в учебный процесс при подготовке студентов и аспирантов Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России).

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,  
опубликованных соискателем**

Результаты по теме диссертации опубликованы в ведущих международных и отечественных журналах, а также в трех отечественных монографиях и одной главе в международной коллективной монографии.

Все основные положения представленной диссертационной работы отражены в 16 статьях в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, определенные ВАК РФ:

1) Оковитый С.В., Аркадьева А.В., Безбородкина Н.Н., Сакута Г.А., Ярославцев М.Ю., Шуленин С.Н., Кудрявцев Б.Н. Новый плейотропный эффект симвастатина при экспериментальном стеатогепатите у крыс. / С.В. Оковитый, А.В. Аркадьева, Н.Н. Безбородкина, Г.А. Сакута, М.Ю. Ярославцев, С.Н. Шуленин, Б.Н. Кудрявцев // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2007. — Т. 70, вып. 3. — С. 43–45.

- 2) Безбородкина Н.Н., Оковитый С.В., Кудрявцева М.В., Кирик О.В., Зарубина И.В., Кудрявцев Б.Н. Морфометрия митохондриального аппарата гепатоцитов нормальной и цирротически измененной печени / Н.Н. Безбородкина, С.В. Оковитый, М.В. Кудрявцева, О.В. Кирик, И.В. Зарубина, Б.Н. Кудрявцев // *Цитология*. — 2008. — Т. 50, вып. 3. — С. 228–236.
- 3) Безбородкина Н.Н., Вахтина А.А., Байдюк Е.В., Якупова Г.С., Кудрявцев Б.Н. Взаимосвязь между содержанием гликогена в гепатоцитах и их размером в нормальной и цирротической печени крыс / Н.Н. Безбородкина, А.А. Вахтина, Е.В. Байдюк, Г.С. Якупова, Б.Н. Кудрявцев // *Цитология*. — 2009. — Т. 51, вып. 5. — С. 417–427.
- 4) Безбородкина Н.Н., Киршина Е.И., Мушинская Е.В., Кудрявцев Б.Н. Применение реактивов типа Шиффа с различными спектральными характеристиками для определения легкодоступной и труднодоступной фракций гликогена в отдельных гепатоцитах / Н.Н. Безбородкина, Е.И. Киршина, Е.В. Мушинская, Б.Н. Кудрявцев // *Цитология*. — 2009. — Т. 51, вып. 12. — С. 1025–1035.
- 5) Baidyuk E.V., Shiryayeva A.P., Bezborodkina N.N., Sakuta G.A. Morphology and function of cultured hepatocytes isolated from rats with experimental toxic hepatitis / E.V. Baidyuk, A.P. Shiryayeva, N.N. Bezborodkina, G.A. Sakuta // *Cell and Tissue Biology*. — 2009. — Vol. 3, Issue 6. — P. 565–572.
- 6) Bezborodkina N.N., Shtein G.I., Sivova E.V., Chestnova A.Yu., Kudryavtsev B.N. Analysis of structure of glycogen in rat hepatocytes using cytochemical and FRET methods / N.N. Bezborodkina, G.I. Shtein, E.V. Sivova, A.Yu. Chestnova, B.N. Kudryavtsev // *Cell and Tissue Biology*. — 2011. — Vol. 5, Issue 5. — P. 417–427.
- 7) Bezborodkina Natalia N., Okovity Sergey V., Chestnova Anna Yu., Kudryavtsev Boris N. Hepatocytes of cirrhotic rat liver accumulate glycogen more slowly than normal ones / Natalia N. Bezborodkina, Sergey V. Okovity, Anna Yu. Chestnova, Boris N. Kudryavtsev // *Hepatol. Int.* — 2013. — Vol. 7. — P. 1084–1090.
- 8) Bezborodkina N.N., Chestnova A.Yu., Okovity S.V., Kudryavtsev B.N. Activity of glycogen synthase and glycogen phosphorylase in normal and cirrhotic rat liver during glycogen synthesis from glucose or fructose / N.N. Bezborodkina, A.Yu. Chestnova, S.V. Okovity, B.N. Kudryavtsev // *Exp. Toxicol. Pathol.* — 2014. — Vol. 66, Issue 2-3, — P. 147–154.
- 9) Chestnova A.Yu., Bezborodkina N.N., Matyukhina N.M., Kudryavtsev B.N. Dynamics of proglycogen and macroglycogen in hepatocytes of normal and cirrhotic rat liver at various stages of glycogenesis. / A.Yu. Chestnova, N.N. Bezborodkina, N.M. Matyukhina, B.N. Kudryavtsev // *Cell and Tissue Biology*. — 2015. — Vol. 9, Issue 2. — P. 133–140.
- 10) Bezborodkina N.N., Chestnova A.Yu., Vorobev M.L., Kudryavtsev B.N. Glycogen content in hepatocytes is related with their size in normal rat liver but not in cirrhotic one / N.N. Bezborodkina, A.Yu. Chestnova, M.L. Vorobev, B.N. Kudryavtsev // *Cytometry Part A*. — 2016. — Vol. 89, Issue 4. — P. 357–364.
- 11) Bezborodkina N.N., Chestnova A.Yu., Vorobev M.L., Kudryavtsev B.N. Spatial structure of glycogen molecules in cells / N.N. Bezborodkina, A.Yu. Chestnova, M.L. Vorobev, B.N. Kudryavtsev // *Biochemistry (Moscow)*. — 2018. — Vol. 83, Issue 5, — P. 467–482.
- 12) Ailanen Liisa, Bezborodkina Natalia N., Virtanen Laura, Ruohonen Suvi T., Malova Anastasia V., Okovityi Sergey V., Chistyakova Elizaveta Y., Savontaus Eriika. Metformin normalizes the structural changes in glycogen preceding prediabetes in mice overexpressing neuropeptide Y in noradrenergic neurons / Liisa Ailanen, Natalia N. Bezborodkina, Laura Virtanen, Suvi T. Ruohonen, Anastasia V. Malova, Sergey V. Okovityi, Elizaveta Y. Chistyakova, Eriika Savontaus // *Pharmacol. Res. Perspect.* — 2018. — Vol. 6, Issue 2. — e00389.
- 13) Bezborodkina Natalia N., Stepanov Andrey V., Vorobev Mikhail L., Chestnova Anna Yu., Stein Grigory I., Kudryavtsev Boris N. Cytochemical analysis of spatial structure of glycogen molecules in rat hepatocytes / Natalia N. Bezborodkina, Andrey V. Stepanov, Mikhail L.

Vorobev, Anna Yu. Chestnova, Grigory I. Stein, Boris N. Kudryavtsev // Journal of Molecular Structure. — 2021. — Vol. 1228. — 129770.

14) Bezborodkina Natalia N., Okovityi Sergey V., Kudryavtsev Boris N. Postprandial glycogen content is increased in the hepatocytes of human and rat cirrhotic liver / Natalia N. Bezborodkina, Sergey V. Okovityi, Boris N. Kudryavtsev // Cells. — 2021. — Vol. 10, Issue 5. — 976.

15) Prikhodko V.A., Bezborodkina N.N., Okovityi S.V. Pharmacotherapy for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Emerging Targets and Drug Candidates / V.A. Prikhodko, N.N. Bezborodkina, S.V. Okovityi // Biomedicines. — 2022. — Vol. 10. — 274.

16) Bezborodkina N.N., Stepanov A.V., Vorobev M.L., Stein G.I., Okovityi S.V., Kudryavtsev B.N. Dynamics of the glycogen  $\beta$ -particle number in rat hepatocytes during glucose refeeding / N.N. Bezborodkina, A.V. Stepanov, M.L. Vorobev, G.I. Stein, S.V. Okovityi, B.N. Kudryavtsev // International Journal of Molecular Sciences. — 2022. — Vol. 23. — 9263.

#### **Ценность научных работ соискателя**

Статьи соискателя опубликованы в высокорейтинговых рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных WoS и Scopus, в том числе входящих в первый (Q1) квартиль и имеющих высокий импакт-фактор.

#### **Соответствие диссертации специальности.**

Диссертационное исследование Н.Н. Безбородкиной «Особенности гликогенеза в гепатоцитах при хронических заболеваниях печени» по проблематике, набору поставленных задач и используемым методам полностью соответствует специальности 1.5.22. Клеточная биология.

#### **Заключение**

Диссертация «Особенности гликогенеза в гепатоцитах при хронических заболеваниях печени» Безбородкиной Натальи Николаевны может быть рекомендована к защите в СПбГУ на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Зав. кафедрой цитологии и гистологии СПбГУ,  
доктор биологических наук, профессор



А. Д. Харазова

