

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по науке ФГАОУ ВО
«Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского»,
д.ф.-м.н., проф. В.Б. Казанцев
«02» марта 2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Давыдюка Алексея Викторовича «Метаболические эффекты динитрозильных комплексов железа в отношении системы крови», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология

Актуальность темы выполненной работы и её связь с соответствующими отраслями науки.

В настоящее время в лечебных целях все более активно применяются физико-химические факторы. Являясь прерогативой физиотерапии, сейчас они успешно демонстрируют свои возможности как полноценного дополнительного (Пономаренко Г.Н., 1995), а в некоторых случаях – самостоятельного (фотодинамическая терапия, лазерная медицина, озono-оксигенотерапия и др.) метода коррекции различных заболеваний и патологических состояний (Илларионов В.Е., 1992; Узденский А.Б., 2010; Перетягин С.П. с соавт., 2011; Буйлин В.А., Москвин С.В., 2005).

Несмотря на имеющую место в литературе дискуссию относительно эффективности применения данных технологий, последняя подтверждена, в частности, тридцатилетней историей экспериментально-клинического обоснования целесообразности применения озонотерапии при широком спектре патологии человека и животных (Гречко В.Н., Воробьев А.В., 2008; Перетягин С.П. с соавт., 2011), и более чем десятилетней – для синглетно-кислородной терапии (Заворотная Р.М., 2002; Tuner J., Hodl L., 1996).

Ситуация с раскрытием молекулярных механизмов действия различных физико-химических агентов становится еще более затруднительной в свете революционного открытия роли оксида азота (II) [NO] как одного из наиболее важных меж- и внутриклеточных молекулярных мессенджеров (Граник В.Г., Григорьев Н.Б., 2004; Ванин А.Ф. с соавт., 2009, 2011; Гусакова С.В., Ковалев И.В., Смаглий Л.В. с соавт., 2015; Gryglewsky R.J., Minuz P., 2001). Следует отметить, что в последние десятилетия число работ в данной отрасли науки растет лавинообразно (Граник В.Г., Григорьев Н.Б., 2004; Ванин А.Ф. с соавт., 2009, 2011; Murad F., 1994; Gryglewsky R.J., Minuz P., 2001). Этими исследованиями было, в частности, показано, что NO определяет текущий тонус сосудов, ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию на стенках кровеносных сосудов, функционирует в центральной и вегетативной нервной системы, регулируя деятельность органов дыхания, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы.

Кроме того, данное соединение является нейротрансмиттером, а также принимает участие в регуляции системы иммунитета. В то же время большинство исследований предполагали влияние на эндогенную продукцию оксида азота, тогда как слабо изучена возможность резульативного управления состоянием организма путем экзогенного введения соединения. Данная работа является попыткой решения этих проблем, что и обуславливает ее актуальность.

Связь с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Новизна диссертационной работы не вызывает сомнений и заключается в том, что с использованием биологических моделей различного уровня организации установлены особенности метаболизма биосистем при воздействии динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами.

Автором работы впервые представлены сведения об особенностях реакции системы крови на физиологический донор оксида азота в экспериментах *in vitro* (на образцах крови человека) и *in vivo* (на половозрелых крысах), проявляющихся в смещении ряда параметров энергетического и окислительного метаболизма, состояния детоксикационных систем эритроцитов, а также кристаллогенных свойств крови.

Показано наличие взаимосвязи между метаболическими и кристаллоскопическими параметрами в процессе ответа на применение физиологического донора оксида азота, на основании чего предложена и обоснована схема системных реакции на введение в биосистему глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов.

Результаты работы позволяют получить представление о характере системного ответа на внутрибрюшинное введение динитрозильных комплексов железа. Эта информация имеет существенное значение для разработки фармакологических средств, содержащих в качестве основного действующего вещества данный донор оксида азота. В свою очередь, последние способны иметь гемодинамические и антиоксидантные эффекты, а также обладать нормализующим действием на энергетический метаболизм и кристаллогенную активность крови.

Структура и содержание работы.

Анализируемая диссертация построена по классическому плану (введение, обзор литературы, глава, посвященная раскрытию материалов и методов исследования, глава собственных исследований и заключение, завершающееся выводами) и имеет достаточно большой объем (147 страниц). Список цитированной литературы, включает 177 тематических источников, в том числе 67 – на иностранных языках.

Цель исследования полностью охватывает все проведенные автором работы экспериментальные изыскания, а задачи, сформулированные в

диссертации, четко выделяют отдельные этапы выполненного соискателем комплексного исследования.

Диссертация основана на большом объеме экспериментальных и исследований крови (суммарно – 1740), полученных от 90 крыс линии Вистар и 60 практически здоровых людей-доноров крови.

Для оценки биологических эффектов глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа в экспериментах *in vitro* и *in vivo* соискателем использован обширный набор методик, включающий в первую очередь биохимические и биофизические методы. Так, для исследования окислительного метаболизма автором была использована Fe-индицированная биохемилюминесценция, определены уровень малонового диальдегида и каталитическая активность супероксиддисмутазы; для изучения состояния промежуточного звена энергетического обмена – активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, концентрация лактата; оценены физико-химические свойства крови (рН, окислительно-восстановительный потенциал, парциальное давление газов и др.). Особо следует выделить кристаллоскопические исследования сыворотки крови, которые позволили диссертанту интегрально продемонстрировать особенности действия рассматриваемого донора оксида азота на биосистемы. Также важной частью работы следует признать проведение корреляционного анализа между кристаллоскопическими и метаболическими показателями крови.

Все использованные в диссертации количественные и полуколичественные данные обработаны надежными статистическими алгоритмами, представлены на наглядных рисунках (44) и в таблице.

Собственные исследования соискателя сформированы в виде единой главы диссертации. В ней интегрированы данные всех выполненных соискателем экспериментов. В частности, приведены сведения о дифференцированном характере влияния свободного (газообразного) и депонированного (в форме динитрозильных комплексов железа) оксида азота на состояние окислительного метаболизма, что проявилось в прооксидантной

активности высоких концентраций газообразного NO и антиоксидантной – изучаемого донора оксида азота. Также автором показано положительное влияние последнего на параметры энергетического метаболизма эритроцитов, кристаллогенные свойства сыворотки крови и ряд ее физико-химических показателей. Согласованность сдвигов системы крови в ответ на действие физиологического донора оксида азота была продемонстрирована с использованием корреляционного анализа.

Во второй части главы, посвященной описанию собственных результатов работы, приведены сведения о реагировании системы крови крыс линии Вистар на проведение краткого (10 процедур) курса внутрибрюшинного введения глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа. Автором продемонстрировано дозозависимое действие соединения на все рассматриваемые показатели, причем на основании проведенных исследования оптимальной соискатель считает концентрацию (0,30-0,45 мМ). Использование последней способствует повышению антиоксидантного потенциала плазмы крови, стимуляции энергетического метаболизма и активности альдегиддегидрогеназы эритроцитов. Эти данные подтверждаются и результатами кристаллоскопического теста и корреляционного анализа взаимосвязей.

Выводы логически вытекают из содержания диссертации, основываются на результатах работы, качественно и количественно соответствуют цели и задачам работы, сформулированы четко.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основываются на достаточном количестве наблюдений (проведено исследовано 90 крыс линии Вистар и 60 практически здоровых людей-доноров крови), аргументировано доказываются соответствующими исследованиями и их анализом, вытекают из существа проведенной работы. При выполнении работы

были использованы современные методы исследования. Полученные данные обработаны в соответствии с общепринятыми методами статистики. Поставленные задачи решены полностью. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из проведенных исследований, что позволяет считать их обоснованными.

Личное участие соискателя в подготовке диссертации.

Диссертантом Давыдюком А.В. лично под руководством д.б.н. А.К. Мартусевича был собран и проанализирован экспериментальный материал, на основании которого выполнена диссертационная работа, проведена его статистическая обработка и анализ полученных результатов, подготовлены научные публикации.

Основные результаты диссертации представлены в 26 печатных работах, 8 из которых – статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Полученные результаты обсуждены на всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

В процессе выполнения работы диссертантом получены новые данные об особенностях реагирования биологических систем на действие экзогенного источника монооксида азота. Показано его положительное влияние на метаболические и кристаллоскопические параметры крови *in vitro* и *in vivo*. Несомненно, следует продолжить исследования по вопросам, разработанным в данной работе, так как созданная фундаментальная база способна служить основой для разработки инновационных технологий метаболической коррекции, в частности, в экспериментальной и клинической комбустиологии, медицине критических состояний и др.

Замечания к работе.

Работа имеет ряд замечаний.

В автореферате и диссертации не представлена статистическая значимость результатов.

В первой части работы исследование действия динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами на активность липопероксидации проведено с концентрацией 3 мкмоль/л, а анализ активности альдегиддегидрогеназы с другими концентрациями соединений, тогда как при оценке кристаллизации сыворотки вообще не указана концентрация.

Не понятно как соотносятся концентрации различных форм оксида азота, в том числе динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами, при изучении особенностей реагирования параметров сыворотки крови с концентрациями при исследовании системного ответа организма крыс.

Данные замечания не умаляют значения и актуальности диссертационного исследования.

Заключение.

Диссертация Давыдюка Алексея Викторовича на тему «Метаболические эффекты динитрозильных комплексов железа в отношении системы крови», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным самостоятельно, на достаточно высоком научном и методическом уровне и направленным на решение актуальной научно-практической задачи в физиологии системы крови и биологии оксида азота.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор достоин присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании кафедры физиологии и анатомии

Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», протокол заседания № 10 от 20 февраля 2018 года.

Зав. кафедрой физиологии и анатомии
Института биологии и биомедицины
ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского»,
д.б.н., доц.



А.В. Дерюгина