

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой морфологии, физиологии и патологии животных Любина Николая Александровича на диссертацию Мартусевич Анастасии Анатольевны «Метаболические и гемодинамические эффекты синглетного кислорода», представленной к защите в диссертационный совет Д 220. 034. 02 при ФГОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.04 - биохимия

Актуальность темы. При нормальном функционировании клетки скорость образования и удаления активных форм кислорода относительно постоянны и сбалансированы. Механизм поддержания окислительно-восстановительного баланса основан на запуске сигнального каскада, чувствительного к активным формам кислорода (АФК), что приводит к увеличению экспрессии антиоксидантных ферментов.

Хронический метаболический сдвиг между оксидантами и антиоксидантами, был назван «окислительным стрессом».

Окислительный стресс приводит к возникновению многих заболеваний, включая хронические.

В последние годы большое внимание уделяется изучению механизмов генерации и распространения свободных радикалов и возможности регуляции противостояния организма окислительному стрессу.

Однако ассортимент средств по коррекции не слишком широк.

В этом плане привлекает внимание синглетный кислород (СК), способный генерироваться в биологических системах при некоторых условиях *in vivo*, а также как один из редокс- мессенджеров в реализации межклеточных взаимодействий. В то же время биологические эффекты синглетного кислорода, как и характер ответа организма на его экзогенное введение, раскрыты недостаточно полно, причем имеющиеся сведения получены преимущественно в клинических условиях (Заворотная Р. М., 2002), что не позволяет говорить о молекулярно-клеточных механизмах, активируемых рассматриваемым соединением. Следовательно, необходимы

углубленные исследования, направленные на оценку биологического ответа на действие экзогенного СК в норме и при патологии, что позволит более четко отобразить его саногенетический потенциал.

На этом основании диссертационная работа Мартусевич А.А. представляется актуальной и своевременной, востребованной с теоретических и практических позиций.

Научная новизна работы связана с тем, что установлены функционально-метаболические эффекты экзогенного источника синглетного кислорода. Диссертантом выявлено, что в условиях *in vitro* (на образцах крови) и *in vivo* (у здоровых крыс) эффекты газового потока от генератора синглетного кислорода в первую очередь обусловлены антиоксидантным действием и стимулирующим влиянием на энергетический обмен клеток и тканей. При этом *in vitro* особенностью действия на образцы крови газового потока, исходно содержащего синглетный кислород, служит антиоксидантный эффект, влияние на промежуточное звено энергетического метаболизма, стимуляция ферментных детоксикационных систем, стабилизирующий эффект в отношении мембран эритроцитов и прокристаллогенная активность. Установлено, что ингаляции газового потока, продуцируемого аппаратом для генерации синглетного кислорода, оптимизируют состояние окислительного и энергетического метаболизма крови и тканей, нормализации активности ферментных детоксикационных систем, стимуляции кристаллогенных свойств сыворотки крови и электрокинетической активности эритроцитов крыс.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.

Исследование выполнено на современном методическом уровне. Автором использован комплекс современных и классических базовых методов исследования адекватных поставленным цели и задачам.

Объем исследования достаточен для проведения статистической обработки: проанализированы результаты 2390 исследований различных

параметров крови, полученной от 50 практически здоровых людей и 60 крыс линии Вистар.

Достоверность изложенных в работе результатов обеспечивалось статистической обработкой полученных данных, сформулированные соискателем выводы сделаны на основе анализа экспериментальных данных и логически вытекают из фактического материала.

Список литературы включает 167 источников, в том числе 84 – отечественных и 83 – зарубежных авторов.

По теме диссертации опубликовано 52 научных работы, в том числе 2 монографии, 31 статья в журналах, рекомендованных ВАК РФ (12 из них – в изданиях, индексируемых международными базами цитирования).

Основные положения работы доложены и получили одобрение на конференциях, симпозиумах, съезде физиологического общества.

Результаты исследований внедрены в учебный процесс ряда кафедр вузов.

Все основные положения диссертации нашли отражение в автореферате.

Рекомендации по использованию результатов исследований и выводов диссертации.

Результаты анализируемой диссертационной работы позволяют получить представление о характере функционально-метаболического ответа организма на ингаляционное применение газового потока, продуцируемого аппаратом для генерации синглетного кислорода. Эта информация имеет существенное значение для разработки инновационных лечебных технологий, основанных на синглетно-кислородной терапии, которые могут быть применены при широком спектре заболеваний и патологических состояний, сопровождающихся тканевой гипоксией, окислительным стрессом и энергодефицитом.

Оценка содержания диссертации. Диссертация построена по традиционному плану: изложена на 171 странице машинописного текста.

Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с изложением собственных наблюдений и заключения с выводами.

Во введении отражена актуальность, вытекающие из нее цель и соответствующие задачи исследования. Введение четко отражает научную новизну и практическую значимость исследования.

Обзор литературы написан хорошим языком, достаточно полно освещает современные представления об активных формах кислорода и их функциональной роли в жизнедеятельности организма на различных уровнях его организации. Показана и раскрыта структура про- и антиоксидантных систем тканей и биологических жидкостей, формирующие окислительный метаболизм. Выделено и охарактеризовано с современных позиций понятие окислительного (оксидативного) стресса, указаны его лабораторные диагностические критерии. Особое внимание уделено синглетному кислороду одной из наименее широко известных активных форм кислорода. Автором систематично представлены имеющиеся в литературе сведения об его биологической роли и возможностях возникновения в живых системах. Рассмотрено участие синглетного кислорода в осуществлении фотодинамической терапии. Приведены данные об истории технологии получения экзогенного синглетного кислорода для медицинского использования. Объем проработанных литературных источников достаточен и полностью отражает изучаемую проблему.

Во второй главе представлены подробная характеристика материала и методов исследования, которые были использованы для решения поставленных задач, а также данные собственных исследований диссертанта.

В первом разделе второй главы подробно раскрыты методы оценки состояния окислительного и энергетического метаболизма крови, ферментных систем детоксикации, физико-химических ее параметров (рН, окислительно-восстановительный потенциал, парциальное давление газов и др.), изучения кристаллогенных и иницирующих свойств сыворотки крови,

а также результаты изучения variability сердечного ритма и микроциркуляции.

Второй раздел главы 2 посвящен комплексной характеристике особенностей ответа крови на действие различных активных форм кислорода. В рамках данного этапа исследования (в эксперименте *in vitro*) приведены сравнительные данные о модификации окислительного и энергетического метаболизма крови при действии озono-кислородной смеси и двух концентраций синглетного кислорода, а также их влиянии на каталитические свойства альдегиддегидрогеназы, физико-химические свойства биосреды и кристаллогенную активность сыворотки крови. Особый интерес представляют данные о модификации электрофоретической подвижности эритроцитов при применении указанных активных форм кислорода. Кроме того, диссертантом продемонстрирована дозозависимость эффекта действия экзогенного синглетного кислорода на параметры крови *in vitro*.

В третьем разделе главы проанализированы результаты изменения метаболических показателей крови, ее кристаллогенной активности и физико-химических параметров при проведении курса ингаляций синглетно-кислородной и озono-кислородной смеси. Приведены сведения о сравнительном воздействии ингаляций озона и синглетного кислорода (в двух режимах работы генератора – 50 и 100%) на интенсивность липопероксидации, общую антиоксидантную активность плазмы, концентрацию малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы. В рамках мониторинга состояния энергетического обмена оценено влияние рассматриваемых активных форм кислорода на активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции, уровень лактата. Кроме того, приведены особенности преобразования собственной кристаллизации сыворотки крови крыс в условиях ингаляционного применения озона и синглетного кислорода. Дополнительно показаны особенности модификации микроциркуляции и variability сердечного ритма при использовании

указанных активных форм кислорода. Показано, что синглетный кислород в большей степени интенсифицирует кровоток по микрососудам преимущественно за счет эндотелиального компонента, параллельно вызывая неспецифическую активацию симпатической стимуляции миокарда.

Заключение по работе, представляющее ее третью главу, логично завершает материал диссертационного исследования. В данном разделе на основании критического анализа данных литературы и собственных исследований автора представлена обобщающая характеристика биологических эффектов экзогенного синглетного кислорода. Подробно проанализированы результаты проведенных экспериментов *in vitro* и *in vivo* с учетом мощности генератора синглетно-кислородной воздушной смеси. Показано, что при ингаляционном применении синглетного кислорода (в случае использования 100% мощности генератора) имеет место активация антиоксидантной системы крови и тканей и стимуляция энергетического метаболизма в них. Также к биологическим эффектам действия данного фактора следует отнести увеличение электрофоретической подвижности эритроцитов и активацию кристаллогенных свойств плазмы. Кроме того, положительным эффектом синглетного кислорода является стимуляция микроциркуляции.

Интересно, что применение половинной мощности генератора существенно сглаживает указанные биологические эффекты экзогенного синглетного кислорода.

Выводы, служащие логичным итогом заключения, хорошо аргументированы, полностью соответствуют задачам и являются логичным завершением исследования.

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию А.А. Мартусевич нет.

Хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. Как происходит генерация синглетного кислорода в используемом Вами аппарате?

2. Возможно ли развитие негативных эффектов от ингаляций синглетного кислорода при увеличении продолжительности курса воздействия?

3. Раскройте более подробно возможности практического применения результатов работы.

Заключение. Представленная диссертация Мартусевич Анастасии Анатольевны «Метаболические и гемодинамические эффекты синглетного кислорода» является законченным, самостоятельно выполненным, научно-квалификационным исследованием, которое содержит решение актуальной комплексной физиологической и биохимической задачи – изучения биологических эффектов экзогенного кислорода, реализующихся в системах *in vitro* и *in vivo*.

По актуальности, научной новизне, методологии исследования, практическому значению и уровню внедрения диссертация А.А. Мартусевич полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям – пункт 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.04 - биохимия.

Официальный оппонент гражданин РФ
доктор биологических наук
по специальности 03.03.01 - физиология,
профессор, заведующий кафедрой морфологии,
физиологии и патологии животных
ФГБОУ ВО "Ульяновский государственный
аграрный университет
имени П.А. Столыпина»

Николай Александрович
Любин

22 апреля 2019 года
432017, Россия, г. Ульяновск,
бульвар Новый Венец,
ugsha@yandex.ru.
Телефон: 8 (8422) 55-95-35,
8(84231)5-11-75:
телефон: 8 -908- 476-37-45
e-mail: kafedra LNA @ mail.ru



Секретарь Ученого совета
Ф.И.О. Любина Н.А. заверяю:
Ученый секретарь Ученого совета
Н.Н.Аксенова
« 04 » 20 19 г.