

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Мартусевич Анастасии Анатольевны "Метаболические и гемодинамические эффекты синглетного кислорода", представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.04 - биохимия

Актуальность темы. В последнее время наблюдается обоснованное усиление интереса исследователей к свободно-радикальной биологии и медицине, основу которой составляют представления о механизмах действия, а также молекулярно-клеточных и системных эффектах активных форм кислорода и азота (Ванин А.Ф., 2000; Костюк В.А., Потапович А.И., 2004; Меньщикова Е.Б. с соавт., 2008). Известна роль синглетного кислорода (СК) в фотобиологических процессах (Briviba K., Klorz I-O., Sies H., 1997; Krasnovsky A.A., Jr., 1998; Landry M.P. et al., 2009) и реализации эффекта фотодинамической терапии (Малков М.А., Петрищев Н.Н., Мишуткин С.Н., 2008), однако на основании данных литературы и результатов собственных предшествующих изысканий (Заворотная Р.М., 2002; Самосюк И.З., Фисенко Л.И., 2007; Schweitzer C., Schmidt R., 2003) можно предположить, что указанная активная форма кислорода (АФК) имеет существенно более широкий спектр биорегуляторной активности.

В то же время присутствующий массив сведений о характере действия экзогенного СК на организм практически полностью ограничивается клиническими данными о возможности его применения при различной патологии (Заворотная Р.М., 2002; Самосюк И.З., Фисенко Л.И., 2007; Schweitzer C., Schmidt R., 2003). С другой стороны, ни биохимические, ни патофизиологические механизмы реализации подобного саногенетического эффекта неизвестны. Поэтому актуальны исследования, направленные на раскрытие последних. Именно этим проблемам и посвящена анализируемая диссертационная работа Мартусевич А.А.

Приведенные сведения позволяют утверждать, что проблема, сформулированная в диссертации, является актуальной, а успешное решение ее позволит предложить инновационные подходы в свободнорадикальной медицине и физиологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Автор достаточно корректно применяет методы свободнорадикальной медицины, прежде всего – анализ Fe-индуцированной биохемилюминесценции для изучения свободнорадикальных процессов в плазме крови, эритроцитах и тканях животных. При этом для комплексного анализа состояния окислительного метаболизма крови автор дополнительно использовал и другие показатели, в частности – концентрацию малонового диальдегида и активность супероксиддисмутазы. Это позволило с единых позиций изучить особенности влияния синглетного кислорода и озона на протекание свободнорадикальных процессов в рассматриваемых тканях и крови.

Важно отметить, что анализ состояния окислительного метаболизма сочетается в рассматриваемой работе с контролем параметров энергетического обмена, ферментных систем детоксикации. Также существенным и инновационным блоком в работе являются биокристаллоскопические исследования, которые позволяют соискателю с интегративных позиций оценить действие активных форм кислорода, в том числе – озono-кислородной смеси и синглетно-кислородной смеси.

Последующие критическая обработка и статистический анализ полученных результатов позволили диссертанту сформулировать соответствующие выводы и дать конкретные практические рекомендации. Следует отметить, что дизайн исследования учитывает осведомленность автора в вопросах, связанных с современным состоянием рассматриваемой проблемы и используемыми в настоящее время методологическим и методическим аппаратом.

В главе "Обзор литературы" тщательно и разносторонне анализируются достижения и теоретические положения других авторов о многообразии активных форм кислорода, образующихся и играющих существенную

многогранную роль в обеспечении функционирования живых систем. Раскрыты особенности метаболизма с позиции участия в нем про- и антиоксидантным систем, показаны возможные варианты его нарушения, протекающего, в частности, в форме окислительного стресса. С учетом того, что значительная часть диссертации посвящена антиоксидантному эффекту синглетного кислорода, логичным представляется приведение в данной главе подробных сведений о деятельности антиоксидантной системы органов и биологических жидкостей. Особое внимание автора в данной главе, естественно уделено характеристике биологического действия центрального изучаемого агента – синглетного кислорода. В целом, что обзор написан достаточно хорошим языком, основан на критическом анализе значительного количества отечественной и иностранной профильной литературы.

В главе, посвященной описанию материалов и методов исследования, соискателем раскрыт общий объем исследования (2390 анализов параметров крови от 50 практически здоровых людей и 60 крыс линии Вистар). Приведено подробное описание двухэтапного дизайна проведенного эксперимента, подразделяющегося на фрагменты *in vitro* и *in vivo*.

Для оценки биологических эффектов активных форм кислорода автором использован большой комплекс методов, позволяющий провести анализ состояния широкого спектра параметров крови: состояния окислительного и энергетического метаболизма, ферментных систем детоксикации и кристаллогенных свойств сыворотки крови. Особое внимание в главе уделено методике оценки кристаллогенных и иницирующих свойств биологической жидкости, критериям ее описания и трактовке результатов.

Дополнительно диссертантом освоены и успешно применены методы оценки состояния кардиоритма и микроциркуляторного русла, основанные на изучении вариабельности сердечного ритма и использовании лазерной доплеровской флуометрии.

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики. Для этого использовали лицензионную программу SPSS 16.0.

Изложению результатов собственных изысканий посвящены дальнейшие разделы второй главы работы, включающая 9 относительно самостоятельных подпунктов, из текста которых можно получить информацию обо всех проведенных автором исследованиях. Данная глава может быть подразделена на два относительно самостоятельных фрагмента.

Первый из них основан на комплексном анализе действия озона (в концентрации 500 мкг/л) и синглетного кислорода (образованного специальным устройством при мощностях 50 и 100%) на параметры образцов крови в условиях *in vitro*. Автором показан дифференцированный характер их влияния на показатели энергетического обмена (активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, уровень лактата и др.), окислительного метаболизма (интенсивность перекисного окисления липидов, общая антиоксидантная активность, перекисная резистентность эритроцитов, концентрация малонового диальдегида), кристаллоскопические фации сыворотки крови и ряд других физико-химических параметров последней, а также электрофоретическую подвижность эритроцитов. Важно, что сопоставлены эффекты нескольких вариантов воздействия синглетно-кислородной смеси, градируемых по мощности генератора.

Во втором разделе экспериментального исследования диссертантом подробно изучен характер ответа организма лабораторных животных (белых крыс линии Вистар) на ингаляции озono-кислородной и синглетно-кислородной газовых смесей. Изучение производилось с использованием системы показателей, аналогичной экспериментам, выполненным *in vitro*, дополненной оценкой состояния системной и локальной гемодинамики. Показано, что проведение курса ингаляций синглетного кислорода сопровождается нарастанием антиоксидантной активности плазмы крови крыс, снижением концентрации малонового диальдегида в плазме и эритроцитах, стимуляцией каталитических свойств супероксиддисмутазы, альдегиддегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в прямой реакции. Кроме того, выявлено, что рассматриваемый фактор характеризуется умеренным

снижением кристаллогенной активности плазмы и электрофоретического потенциала эритроцитов.

Интересно, что при ингаляционном применении синглетного кислорода по параметрам окислительного и энергетического метаболизма наблюдали тканеспецифичный ответ. Он включал выраженное повышение антиоксидантной активности в ткани легких, сердца и печени, активацию прямой реакции лактатдегидрогеназы и ингибирование обратной реакции фермента в гомогенатах легких, сердца и печени соответственно.

По функциональным параметрам ингаляции синглетного кислорода повышают показатель микроциркуляции преимущественно за счет увеличения амплитуды эндотелиального компонента, вызывают умеренную брадикардию и повышение активности симпатической стимуляции миокарда.

Обоснованность результатов, полученных автором, подтверждается согласованными с ними выводами (5 пунктов), количественно и качественно раскрывающими сформулированные задачи.

Список использованной литературы, пронумерованный в алфавитном порядке, содержит 167 наименований источников, среди которых 83 принадлежат иностранным авторам.

Таким образом, достоверность данных исследования не вызывает сомнений.

Оценка новизны и достоверности результатов. В качестве новых научных результатов диссертантом выдвинуты положения об особенностях биологических эффектов синглетного кислорода и его производных в отношении простых (изолированная из организма биологическая жидкость) и сложных (организм животного) биосистем. Соискателем убедительно доказано, 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.

Автором работы выявлено, что особенностью действия *in vitro* на образцы крови газового потока, исходно содержащего синглетный кислород, служит антиоксидантный эффект, влияние на промежуточное звено энергетического метаболизма, стимуляция ферментных детоксикационных систем, а также стабилизирующий эффект в отношении мембран эритроцитов и прокристаллогенная активность.

Диссертантом впервые 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.

Следует подчеркнуть, что диссертантом адекватно применены современные биофизические и биохимические методы для решения физиологических задач, связанных с изучением эффектов активных форм кислорода на биосистемном (образцы крови) и организменном уровнях.

В целом, результаты, полученные автором, являются новым научным достижением в физиологии, биохимии и свободнорадикальной медицине, создающим базис для развития существующих и формирования новых биомедицинских технологий.

Основные результаты диссертации опубликованы в 52 печатных работах (2010-2018 гг.), причем 31 из которых – статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ (в том числе 12 – в изданиях, индексируемых международными базами цитирования). Также имеются 2 монографии в соавторстве.

Вопросы по диссертационной работе:

1. Каким образом метод лазерной доплеровской флоуметрии, примененный Вами, может оценивать состояние микроциркуляции?
2. Может ли влиять поток от аппарата, генерирующего синглетный кислород, на pH сред, которые им обрабатываются?

3. Как интегрально можно оценить действие синглетного кислорода на свободнорадикальные процессы в биосистемах?

Следует отметить, что текст диссертации и автореферата содержат ряд орфографических и пунктуационных ошибки, однако необходимо признать, что отмеченные замечания не снижают качество исследований, не влияют на главные теоретические выводы и практические результаты.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Заключение. Кандидатская диссертация Мартусевич Анастасии Анатольевны "Метаболические и гемодинамические эффекты синглетного кислорода" представляет собой законченный научно-исследовательский труд, выполненный автором самостоятельно на высоком научном уровне, и является научной квалификационной работой, в которой содержатся существенные новые результаты для физиологии, биохимии и свободнорадикальной медицины. Работа соответствует п. 9 "Положения о порядке присуждения степеней и ученых званий" ВАК РФ, а сам автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.04 - биохимия.

Старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови» ФМБА России,
доктор медицинских наук



Костяев Андрей Александрович

Адрес: 610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72, тел. (8332) 54-97-31,
e-mail: mail@niigpk.ru

Подпись А.А. Костяева заверяю.

Ученый секретарь

ФГБУН «КНИИГиПК» ФМБА России, к.м.н.



М.Е. Ковтунова