

## Отзыв

**официального оппонента д.б.н., проф. Халила Латыповича  
Гайнутдинова на работу Давыдюка А.В. «Метаболические эффекты  
динитрозильных комплексов железа в отношении системы крови»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук по специальности 03.03.01 - физиология**

**Актуальность темы.** Многогранная биорегуляторная роль монооксида азота (регуляция сосудистого тонуса, нейротрансмиссия, апоптоз и др. [Vanin A.F., 2009]), а также возможность его участия как в процессах регенерации и реадaptации, так и в патогенезе различных заболеваний (прежде всего, за счет формирования нитрозативного стресса [Казимирко В.К. с соавт., 2004; Меньщикова Е.Б. с соавт., 2008; Sies H., 1997; van der Vliet A. et al., 1997; Gryglewsky R.J., Minuz P., 2001]) детерминируют целесообразность направленной коррекции уровня NO. Для этого в настоящее время существуют 3 основных пути: применение фармацевтических доноров оксида азота или модуляторов активности NO-синтазы (Марцевич С.Ю., 2003; Мазур Н.А., 2005), действие газового потока, содержащего NO и генерируемого аппаратом «Плазон» (Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Ванин А.Ф., 2012; Martusevich A.K. et al., 2013, 2014), а также использование физических факторов-индукторов эндогенного синтеза соединения (терагерцовое электромагнитное излучение [Буйлин В.А., Москвин С.В., 2005]). С другой стороны, только первый из перечисленных вариантов способен обеспечить четкое дозирование «добавляемой» концентрации оксида азота, однако биотрансформация NO из лекарственных доноров происходит болюсно или в течение короткого промежутка времени, что полезно лишь в отдельных ситуациях (например, при коррекции ишемии коронарных сосудов нитроглицерином [Мазур Н.А., 2005]).

Согласно представлениям ведущего специалиста в области NO-биологии проф. А.Ф. Ванина (2009), особая роль ДНКЖ связана с их протективной

функцией в отношении свободного NO (прежде всего, в предотвращении взаимодействия последнего с супероксид-аноином); возможностью пополнения пула S-нитрозитиолов – дополнительных депо оксида азота; участием ДНКЖ в процессах молекулярной сигнализации, регуляции экспрессии генов, апоптозе, активации ферментных комплексов и метаболизме железа; а также непосредственном влиянии на сосудистый тонус и, следовательно, артериальное давление. С другой стороны, большинство исследователей рассматривают биологические эффекты эндогенного донора оксида азота, тогда как работы по эндогенным донаторам NO единичны. На этом основании диссертационная работа Давыдюка А.В. представляется актуальной и своевременной, востребованной с теоретических и практических позиций.

**Задачи исследования** вытекают из поставленной цели, четко сформулированы, адекватно обеспечиваются выбранными методами сбора и анализа данных, соответствуют выводам диссертации.

**Построение работы.** Диссертация построена по традиционному плану: изложена на 147 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с изложением собственных наблюдений и заключения. Работа завершается выводами и списком литературы, который включает 110 отечественных и 67 зарубежных публикаций.

**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 о биорегуляторной активности монооксида азота и его роли в функционировании живых систем. Особое внимание уделено естественной депонированной форме NO – динитрозильным комплексам железа, их структуре и механизмах образования в биосистемах, известной биологической функции. В качестве

нового направления, позволяющего производить интегральный мониторинг влияния динитрозильных комплексов железа на биологические объекты, раскрыты возможности и методы биокристалломики. Автором приводятся этапы создания современной методологии изучения кристаллогенной активности биологических жидкостей с акцентом на сыворотку крови. Объем проработанных литературных источников достаточен и полностью отражает изучаемую проблему.

**Во второй главе** представлена характеристика материала и методов исследования, которые были использованы для решения поставленных задач. 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.), а также изучения кристаллогенных и иницирующих свойств сыворотки крови. Объем исследования достаточен для проведения статистической обработки: проанализированы результаты 1740 исследований различных параметров крови, полученной от 60 практически здоровых людей и 90 крыс линии Вистар.

Выбранные автором методы исследования вполне соответствуют целям и достаточны для решения задач исследования. Для оценки и интерпретации полученных результатов автором использованы современные методы статистической обработки данных.

**Третья глава** посвящена комплексной характеристике особенностей ответа системы крови на действие динитрозильных комплексов железа. крови животных в норме и при реализации стресс-ответа. В рамках первого этапа исследования (эксперимент *in vitro*) приведены сравнительные данные о модификации окислительного и энергетического метаболизма крови при действии свободного и депонированного оксида азота, а также их влиянии на каталитические свойства альдегиддегидрогеназы, физико-химические свойства биосреды и кристаллогенную активность сыворотки крови.

Дополнительны выполненный автором корреляционный анализ между кристаллоскопическими и метаболическими данными дал возможность верифицировать сопряженность метаболического действия рассматриваемого соединения. В то же время диссертантом продемонстрирована дозозависимость эффекта действия динитрозильных комплексов железа на параметры системы крови *in vitro*.

На втором этапе проанализированы результаты изменения метаболических показателей крови, ее кристаллогенной активности и физико-химических параметров при проведении курса внутрибрюшинного введения глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа. Приведены сведения о воздействии разных доз физиологического донора оксида азота на интенсивность липопероксидации, общую антиоксидантную активность плазмы, концентрацию малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы. В рамках мониторинга состояния энергетического обмена оценно влияние соединения на активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции, уровень лактата. Кроме того, приведены особенности преобразования кристаллогенеза сыворотки крови крыс в условиях воздействия изучаемого соединения. Проведено сопоставление направленности изменений кристаллостаза биоматериала и метаболических параметров крови с использованием корреляционного анализа.

**Заключение по работе** логично завершает материал диссертационного исследования. В данном разделе на основании критического анализа данных литературы и собственных исследований автора представлена обобщающая характеристика биологических эффектов глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа. Подробно проанализированы результаты проведенных экспериментов *in vitro* и *in vivo* с учетом действующих концентраций рассматриваемого агента. Показано, что На основании этого можно заключить, что при действии физиологической дозы донора оксида азота (0,3 мМ) биологическая жидкость способна достаточно свободно адаптироваться к изменениям рН и окислительно-

восстановительного потенциала, что положительно характеризует адаптивные резервы организма в целом (широкий диапазон «метаболической адаптации» к рассматриваемому донору оксида азота).

Напротив, влияние более высокой концентрации тиол-содержащих ДНКЖ (0,6 мМ) приводит к усилению метаболического сопряжения, свидетельствующего о напряжении метаболических систем адаптации, и может создавать условия для развития окислительного дисбаланса.

Важно, что обсуждение результатов завершается интегративной схемой влияния динитрозильных комплексов железа на метаболические, физико-химические и кристаллоскопические показатели крови, которая способствует лучшему пониманию общей идеи работы.

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

**Научная новизна работы** связана с тем, что впервые установлены особенности метаболизма биосистем при воздействии динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами. Диссертантом показано, что в условиях *in vitro* и *in vivo* введение изучаемого донора оксида азота приводит к смещению ряда параметров энергетического и окислительного метаболизма, состояния детоксикационных систем эритроцитов, а также кристаллогенных свойств крови. Впервые доказан дозозависимый эффект действия динитрозильных комплексов железа, причем выделен оптимум действия данного агента, лежащий в пределах 0,1-0,2 мМ для изолированной крови и 0,30-0,45 мМ – для организма крысы.

Показано наличие взаимосвязи между метаболическими и кристаллоскопическими параметрами в процессе ответа на применение физиологического донора оксида азота, что позволило автору предложить и обосновать схему системных реакции на введение в биообъект глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа.

**Практическая значимость.** Результаты анализируемой диссертационной работы позволяют получить объективные данные о модификации системы крови при внутрибрюшинном введении глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа, что может создать предпосылки для разработки фармакологических средств, содержащих в качестве основного действующего вещества данный донор оксида азота. На основании проведенных автором исследований можно предполагать, что рассматриваемое соединение может иметь отчетливые гемодинамические и антиоксидантные эффекты, а также обладать нормализующим действием на энергетический метаболизм и кристаллогенную активность крови.

Исследование выполнено на современном методическом уровне, позволяющем говорить о достоверности полученных результатов и обоснованности представленных выводов. Новизна и практическая значимость не вызывает сомнения. Все основные положения диссертации нашли отражение в автореферате. По теме диссертации опубликовано 26 печатных работ, в том числе 8 - в журналах, рекомендованных ВАК РФ (4 – в изданиях, включенных в международные базы цитирования).

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию А.В. Давыдюка нет.

Хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. Какую информацию о физико-химических свойствах сыворотки крови позволяют получить кристаллоскопические исследования?
2. Каким образом можно синтезировать глутатион-содержащие динитрозильные комплексы железа?
3. Раскройте более подробно возможности практического применения результатов работы.

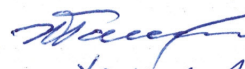
**Заключение.** Представленная диссертация Давыдюка Алексея Викторовича «Метаболические эффекты динитрозильных комплексов железа в отношении системы крови» является законченным, самостоятельно

выполненным, научно-квалификационным исследованием, которое содержит решение актуальной физиологической задачи – изучения биологических эффектов физиологического донора оксида азота в отношении системы крови.

По актуальности, научной новизне, методологии исследования, практическому значению и уровню внедрения диссертация А.В. Давыдюка 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 специальности 03.03.01 – физиология.

Ведущий научный сотрудник OpenLab  
«Двигательная нейрореабилитация»,  
профессор кафедры физиологии человека и животных  
Института фундаментальной медицины и биологии  
Казанского (Приволжского) федерального университета,  
доктор биологических наук, профессор

Х.Л. Гайнутдинов

  
Халил Латифович

Адрес: 420008, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18  
Тел. 8 (843) 231-90-77 e-mail: kh\_gainutdunov@mail.ru

