

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ,
БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 28.12.2020 №2

О присуждении **Соловьевой Анне Геннадьевне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация **на тему:** «Состояние и особенности регуляции оксидоредуктаз системы биотрансформации при термической травме и в условиях воздействия активными формами кислорода и азота» принята к защите 28 сентября 2020 года, протокол №1б, диссертационным советом Д 001.002.01 на базе ФГБУН Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14, приказ Минобрнауки России №105/нк от 11.04.2012; №634/нк от 12.11.2014 (внесение изменений в состав); №518/нк от 28.04.2016 (приказ о переименовании).

Соискатель Соловьева Анна Геннадьевна, 1976 года рождения. В 1999 г. окончила Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского по специальности биология. С 2000 г. по 2004 г. обучалась в аспирантуре Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. С 1998 г. работает в Нижегородском НИИ травматологии и ортопедии (ННИИТО) сначала в должности лаборанта-исследователя в группе патофизиологии научно-лабораторного отдела (август 1998-1999 гг.), затем в должности младшего научного сотрудника группы экспериментальной патофизиологии с виварием (1999-2006 гг.), научного сотрудника группы молекулярной патологии ФГУ «ННИИТО Росздрава» (2006-2014), старшего научного сотрудника отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России (2014–2020), заведующего отделом физико-химических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории (декабрь 2020 г. – по настоящее время) ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01. – физиология, 03.00.04. – биохимия на тему «Активность

альдегиддегидрогеназы печени и эритроцитов крыс в норме и при ожоговой токсемии» защитила в 2005 г. в диссертационном совете Д 212.166.15 на базе ГОУ ВПО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23).

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук выполнена на базе отделения экспериментальной медицины с виварием ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Научный консультант:

Сергиенко Валерий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства».

Официальные оппоненты:

Топунов Алексей Федорович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им А.Н. Баха РАН Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,

Артюхов Валерий Григорьевич – доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет»,

Сяткин Сергей Павлович – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии им. академика Т.Т. Березова медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующим Отделом биохимии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», **Денисенко Александром**

Дорофеевичем, указала, что диссертация Соловьевой А.Г. на тему «Состояние и особенности регуляции оксидоредуктаз системы биотрансформации при термической травме и в условиях воздействия активными формами кислорода и азота», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение современной актуальной проблемы. По актуальности, научной новизне и практической значимости, адекватности методических подходов, объему выполненных исследований и достоверности полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует паспорту специальности «биохимия» и требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук по специальности 03.01.04 – биохимия, а сам соискатель заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

По теме диссертационной работы Соловьевой А.Г. опубликовано 88 печатных работ общим объемом 71,71 печатных листов, в том числе 2 монографии, 6 патентов РФ, 51 статья в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Перечнем ВАК Минобрнауки РФ, из которых 30 публикаций – в журналах, индексируемых в базах данных «Web of science» или «Scopus». Материалы диссертационной работы доложены на 33 международных и всероссийских научных мероприятиях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В., Засканова А.В. Альдегиддегидрогеназа печени крыс в норме и при термической травме: частичная очистка, изучение свойств // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т.152, №11. – С. 506-508. (0,36 усл. печ. л.)
2. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Дударь А.И. Каталитические свойства лактатдегидрогеназы в органах крыс с термической травмой при воздействии глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа//Вестник Томского

государственного университета. Биология. – 2015. – Т. 31, №3. – С. 130-145. (1,40 усл. печ. л.)

3. Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние субхронического воздействия ингаляций оксида азота на метаболические процессы в крови экспериментальных животных//Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 2. – С. 212-214. (0,375 усл. печ. л.)

4. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Кузьмина Е.И. Особенности липопероксидации и антиоксидантной системы крови при воздействии различных концентраций оксида азота в условиях хронического эксперимента//Биофизика. – 2016. – Т. 61, № 4. – С. 771-776. (0,735 усл. печ. л.)

5. Соловьева А.Г., Кулакова К.В., Орлинская Н.Ю., Галова Е.А. Исследование биохимических показателей митохондрий печени как маркеров гипоксии при регенерации ожоговой раны после экспериментальной термической травмы // Современные технологии в медицине. –2018. – Vol. 10, № 1. – Р. 81- 87. (0,814 усл. печ. л.)

На автореферат поступило 7 отзывов от:

1. Агапова Альберта Ивановича, д.б.н., профессора, профессора кафедры медицинской химии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

2. Митькевича Владимира Александровича, д.б.н., главного научного сотрудника лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН.

3. Дегтяревой Ирины Александровны, д.б.н., доцента, главного научного сотрудника отдела агроэкологии и микробиологии Татарского научно-исследовательского института агрохимии и почвоведения – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», лауреата Государственной премии Республики Татарстан в области науки и техники.

4. Фархутдинова Рафагата Равильевича, д.м.н., ведущего научного сотрудника Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

5. Николаевой Алевтины Максимовны, д.б.н., главного научного сотрудника Филиала Акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» в г. Пермь «Пермское научно-производственное объединение «Биомед».

6. Веселова Александра Павловича, д.б.н., профессора, профессора кафедры биохимии и биотехнологии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

7. Ревина Виктора Васильевича, д.б.н., профессора, заведующего кафедрой биотехнологии, биоинженерии и биохимии факультета биотехнологии и биологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева».

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзыве Дегтяревой И.А. имеется уточняющий вопрос об использовании полового признака при формировании групп лабораторных животных и различиях в изучаемых показателях в зависимости от пола животного.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области биохимии патологических состояний и исследований свободнорадикальных процессов и воздействия активных форм кислорода, а также в области медицинской энзимологии, что подтверждается наличием научных публикаций по этим направлениям.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработана и экспериментально обоснована новая научная концепция участия оксидоредуктаз немикросомального окисления и антиоксидантной защиты в формировании окислительного, карбонильного и нитрозативного стресса при комбинированной термической травме (КТТ), обусловленного особенностями регуляции оксидоредуктаз и зависящего от ткани/органа и сроков после ожога, которая обогащает научную концепцию биохимических механизмов патогенеза ожоговой болезни и позволяет выявить качественно новые закономерности исследуемого явления.

Предложены оптимальные схемы использования активных форм кислорода и азота для коррекции гипоксических расстройств и нарушения системы детоксикации при КТТ: 20 ppm газообразного оксида азота, синглетного кислорода в виде ингаляций при 100% мощности генератора, раствор ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л. Эффективность данных схем применения подтверждена в токсикологических экспериментах.

Доказана перспективность использования активных форм кислорода и азота в практике лечения термической травмы. Впервые в клинических условиях при термической травме продемонстрирован благоприятный эффект ингаляций в течение 10 дней синглетного кислорода (100% интенсивности): нормализация концентрации лактата, уменьшение малонового диальдегида плазмы (на 41,56% ($p=0,039$)), активация альдегиддегидрогеназы (в 2,32 раза ($p<0,001$)), супероксиддисмутазы (на 71,71% ($p=0,025$)) и каталазы (на 39,17% ($p=0,031$)).

Введено новое понятие коэффициент баланса энергетических реакций (КБЭР), который позволяет оценить динамику метаболизма крови и представляет собой соотношение активностей универсального фермента энергетического метаболизма лактатдегидрогеназы в прямой (ЛДГпр) и обратной (ЛДГобр) реакциях: $(\text{ЛДГпр}/\text{ЛДГобр})/(\text{ЛДГобр}/\text{ЛДГпр}) \times 100$.

Значение полученных результатов исследования

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что предложенные положения вносят вклад в расширение представлений о патогенезе ожоговой болезни и воздействии активных форм кислорода и азота, имеют важное значение для разработки инновационных лечебных технологий, основанных на терапии активными формами кислорода и азота, которые могут быть применены при многих патологических состояниях, сопровождающихся окислительным стрессом и энергодефицитом, что расширяет границы использования полученных результатов.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс базовых биохимических методов исследования, в том числе математических методов определения кинетических характеристик ферментов и характер ингибирования и активации ферментов, а также морфологическое исследование легких, экспериментальные методики, включая моделирование КТТ.

Изложены новые закономерности функционирования оксидоредуктаз системы биотрансформации при экспериментальной КТТ на клеточном и тканевом уровнях: активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы резко снижена ($0,0001 < p < 0,05$); характер ингибирования активности оксидоредуктаз при КТТ, впервые установленный кинетическим методом анализа, различен.

Раскрыты молекулярные механизмы регуляции активности оксидоредуктаз под влиянием активных форм кислорода и азота в норме и при КТТ: ингаляционный NO и динитрозильные комплексы железа модифицируют активные тиольные группы оксидоредуктаз; при КТТ мишени NO – ферменты немикросомального окисления системы биотрансформации, для синглетного кислорода – ферменты антиоксидантной защиты.

Изучены закономерности функционирования альдегиддегидрогеназы: субстратная специфичность фермента в норме и при КТТ отсутствует; активность эритроцитарной альдегиддегидрогеназы, находящейся в трех надмолекулярных формах (матриксной, лабильно связанной и прочносвязанной с мембраной), превышает таковую в тромбоцитах в 2 раза ($p < 0,05$); активатором фермента служат ионы Mg^{2+} ; КТТ приводит к угнетению активности альдегиддегидрогеназы в I и II поколениях крыс с формированием приобретенной энзимопатии.

Проведена модернизация существующей модели нанесения термической травмы, включающая наряду с контактным ожогом на площади 20% поверхности тела термоингаляционное воздействие горячим воздухом и продуктами горения в течение 20-30 сек., что обеспечило получение новых результатов по теме диссертации, позволив учесть все патофизиологические и биохимические механизмы возникновения КТТ, обосновать оптимальную тактику ее лечения с помощью активных форм кислорода и азота.

Значение полученных Соловьевой А.Г. результатов исследования для практики подтверждается тем, что **разработаны и внедрены** способы диагностики детоксикационной функции печени при ожогах в эксперименте, оценки степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации у больных с термической травмой, оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой.

Определены биохимические показатели (активность альдегиддегидрогеназы и лактатдегидрогеназы), которые имеют важную диагностическую значимость как показатель нарушений окислительного и энергетического метаболизма при альтерации организма на модели КТТ.

Создана система эффективного применения знаний, изложенных в диссертационной работе, которая внедрена в научно-исследовательскую работу и учебный процесс кафедр ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России и Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Представлены разработанные устройства для насыщения крови газами, для экспериментального моделирования термической травмы кожи и для обеспечения регенерации повреждений кожных покровов в эксперименте, которые нашли применение в экспериментальной биологии и медицине.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что эксперименты выполнены с использованием стандартизованных, апробированных методов на большом объеме материала. Показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях: *in vitro*, *in vivo*, в остром и хроническом эксперименте.

Работа состояла из экспериментальной и клинической части. Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar. Животные были разделены путем стратифицированной рандомизации по массе тела (200-250 г.) и возрасту (4-5 месяцев), проведено 13 серий экспериментов. Условия содержания крыс и процедуры работы с ними соответствовали российским и международным рекомендациям и принципам гуманного обращения с животными, согласно директивам Европейского сообщества (№86/609/ЕЕС, Страсбург, 1986). Протоколы опытов с участием животных и людей утверждены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Результаты всех экспериментов статистически обработаны с помощью пакета программ Microsoft Excel, Biostat 4.3, Statistica 6.0 (Statsoft Inc., USA) и использования t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони и критерия Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности взаимосвязи между различными параметрами

использован коэффициент корреляции по Пирсону. Выводы полностью соответствуют цели, задачам и полученным результатам.

Личный вклад соискателя

Соловьевой А.Г. лично принадлежит формулировка проблемы, цели и задач, подбор методов исследования, планирование и разработка дизайнов экспериментов, формулировка выводов, все результаты диссертационного исследования набраны, статистически обработаны, проанализированы лично соискателем. Автор принимала личное участие в апробации результатов исследования, подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Соловьевой А.Г. рассматривает основные вопросы поставленной научной задачи, что подтверждается последовательным выполнением плана исследований, сформулированными задачами, концептуальностью и взаимосвязью выводов. Диссертация является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, содержащее решение научной проблемы участия оксидоредуктаз системы биотрансформации в биохимических механизмах развития ожоговой болезни, имеющей важное значение для развития биохимии и комбустиологии.

Диссертация Соловьевой А.Г. «Состояние и особенности регуляции оксидоредуктаз системы биотрансформации при термической травме и в условиях воздействия активными формами кислорода и азота» по специальности 03.01.04 – «Биохимия», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции).

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

