

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, и.о. руководителя лаборатории физико-химических методов исследования НИИ экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Тимошина Александра Анатольевича на диссертационную работу Марсяновой Юлии Александровны на тему «Роль оксида азота (II) в функционировании митохондрий семенных пузырьков и эпидидимиса крыс при моделировании нормобарической гипоксии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4.- Биохимия

Актуальность исследования

Диссертационное исследование Марсяновой Юлии Александровны посвящено решению вопроса участия оксида азота (II) в регуляции работы митохондриальных ферментов в тканях семенных пузырьков и эпидидимиса крыс при дефиците кислорода *in vivo*.

Гипоксия, как патологическое состояние, может сопровождаться развитием окислительного стресса, следствием чего является нарушение функционирования электрон-транспортной цепи митохондрий. С дефицитом кислорода связывают различные нарушения функционирования организма, в том числе мужское бесплодие. В связи с этим разработка и исследование эффективных препаратов-антигипоксантов является перспективной терапевтической целью. Однако влияние лекарственных субстанций на ткани человека трудно анализировать из-за ограничения доступа к биоматериалу, поэтому исследования на лабораторных животных – наиболее доступный способ решения этой задачи.

Влияние оксида азота (II) на метаболизм митохондрий особенно активно стало изучаться в связи с подтверждением наличия в этих органеллах NO-продуцирующего фермента – NO-синтазы. Другими авторами уже описывалась значимость NO для регуляции активности железосодержащих ферментов, таких

как цитохромоксидаза и сукцинатдегидрогеназа. Однако тканеспецифическая зависимость регуляции работы митохондрий в условиях гипоксии с помощью NO подробно не изучена. Так, показано, что ткани условно можно разделить по степени чувствительности к гипоксии. Более ранние исследования относят эпидидимис к тканям со средней чувствительностью, поскольку содержание кислорода в его клетках даже в условиях нормоксии относительно низкое, что связывают с его функцией поддержания сперматозоидов в состоянии покоя.

Оксид азота (II) обладает свойствами как про-, так и антиоксиданта, что часто носит дозозависимый характер. В физиологических условиях в клетке уровень NO поддерживается путём его синтеза из аргинина, восстановления нитритов, высвобождения из пула, где оксид азота (II) связан с металлоферментами, а также скоростью его расходования – перехода в активные формы азота, образования комплексных соединений и диффузией в соседние клетки и ткани. Такое многообразие процессов и сложность их регуляции при различных отклонениях метаболизма составляют перспективу исследования роли оксида азота (II).

Таким образом, создаются предпосылки для изучения механизмов реагирования на условия кислорододефицита тканей со средней чувствительностью к гипоксии и участия в этих процессах NO, что, несомненно, подчёркивает актуальность этого исследования.

Цель работы сформулирована исходя из введения и обзора литературы, и охватывает те области научного знания, где требуется проведение более детальных исследований. В соответствии с целью работы поставлено семь основных задач, что является достаточным для диссертационной работы.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Представлены результаты оценки степени карбонилирования белков митохондрий, как в условиях экспериментального дефицита кислорода, так и в условиях модуляции синтеза оксида азота (II). Подтверждён *in vivo* эффект донора NO вызывать состояние псевдогипоксии. Установлены корреляционные связи между эстрадиолом и активностью α -глюкозидазы головки эпидидимиса, а также

между сукцинатом и фактором, индуцируемым гипоксией. Проведено исследование изоферментного спектра лактатдегидрогеназы, как в цитоплазме, так и в митохондриях, благодаря чему установлено участие оксида азота (II) в распределении изоформ фермента. Подтверждено взаимодополняющее влияние сукцината и NO на адаптационные процессы при гипоксии. Рассматриваемые области исследования охватывают широкий спектр явлений, а полученные данные дополняют существующие в науке современные представления о механизмах адаптации к гипоксическим условиям.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Данное исследование имеет преимущественно фундаментальный характер. Однако, диссертантом выделено несколько практических рекомендаций, основанных на полученных результатах: разработанный автором способ моделирования нормобарической гипоксии предлагается в качестве рабочей, воспроизводимой и результативной методики имитирования дефицита кислорода *in vivo* импульсного характера; исследование подтверждает взаимное влияние сукцината и оксида азота (II) на регуляцию механизмов адаптации к гипоксии, что, несомненно, является ценным результатом, благодаря которому полученные данные анализа на субклеточном уровне взаимодействия сукцината и аргинина в качестве антигипоксантов могут послужить предпосылкой для клинических исследований взаимодействия препаратов на основе этих метаболитов; предлагается провести клиническую оценку функционирования придатка яичка на основе нескольких параметров – эстрадиола плазмы крови и активности α -глюкозидазы, коррелирующих в данном исследовании.

Благоприятное впечатление производит критическая оценка работы самим автором, представленной в виде перспектив дальнейшей разработки темы. Диссертантом выделены основные методические вопросы, которые не входили в данное исследование, но представляют научный интерес и могут послужить предпосылками для дальнейшего изучения вопроса регуляции механизмов адаптации к гипоксии. Также выделены те результаты работы, которые представляют практический интерес для человека, но ставят под сомнение

существующие представления о цели применения биологически активных добавок, содержащих сукцинат или аргинин, и автор, понимая возникающее противоречие между своими результатами и литературным поиском, предлагает использовать эти данные для дальнейших исследований.

Содержание работы, её завершенность и оформление

Диссертационная работа содержит введение, 3 главы, заключение, выводы, практические рекомендации и обсуждение перспектив дальнейшей разработки темы, а также списки сокращений и литературы. Она иллюстрирована 27 таблицами и 65 рисунками, объём работы составляет 216 страниц.

Разделы введения соответствуют общепринятому порядку изложения. Актуальность исследования полностью отражена, приведено достаточное количество ссылок на литературные источники, подробно описаны исследования последних лет, послужившие предпосылкой для данной работы. Заметно, что автор проанализировал не только зарубежную литературу, но и охарактеризовал достижения отечественных исследователей, в том числе коллег по университету. Положения, выносимые на защиту, сформулированы в соответствии с выводами исследования, четко описывают полученные результаты и демонстрируют научную значимость проделанной работы.

Глава 1. Обзор литературы. В обзоре литературы обобщены сведения об участии митохондрий в формировании адаптации к гипоксии, затронуты патогенетические аспекты этого процесса, показано участие оксида азота (II) в развитии окислительного стресса, сопровождающего митохондриальные дисфункции, обозначена роль исследуемых метаболитов сукцината и лактата. В целом, обзор литературы полностью освещает теоретическую сторону работы на достаточно глубоком уровне детализации.

Глава 2. Материалы и методы. Представлено описание всех используемых методов с указанием источников литературы. Описан дизайн исследования, схема и последовательность введения препаратов.

Глава 3. Результаты исследований и их обсуждение. Описание результатов исследования начинается с характеристики способа моделирования

нормобарической хронической гипоксии, что послужило основой для патента. Графически представлены данные о содержании кислорода и углекислого газа на протяжении сеанса гипоксии. Далее в этой главе представлены семь подразделов, в которых описаны основные результаты исследования, соответствующие всем поставленным задачам.

Выводы сформулированы вполне корректно и полностью соответствуют основным результатам, полученным соискателем в данной диссертационной работе. Работа написана хорошим научным языком и достаточно хорошо иллюстрирована.

Автореферат диссертационной работы достаточно полно и корректно содержит суть и основные результаты, полученные автором.

По материалам диссертации автором опубликовано 16 научных работ, достаточно полно отражающих основные полученные результаты. Кроме того, эти материалы были успешно представлены соискателем на вузовских, всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Замечания и недостатки работы

Принципиальных замечаний по диссертационной работе не имею. Тем не менее, следует отметить, что при написании литературного обзора автору следовало бы не только приводить литературные данные, но также проводить их более детальное обсуждение. Результатом именно такого обсуждения должна быть постановка задачи диссертации, а следовательно, и обоснование цели и основных задач работы. Мне хотелось бы ещё раз отметить, что данное замечание не является существенным, не затрагивает основных результатов и выводов работы и имеет скорее рекомендательный характер.

Заключение

Диссертация Марсяновой Юлии Александровны на тему «Роль оксида азота (II) в функционировании митохондрий семенных пузырьков и эпидидимиса крыс при моделировании нормобарической гипоксии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-

квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи: подтверждение *in vivo* участия оксида азота (II) в регуляции адаптации митохондрий к импульсным воздействиям гипоксии через гипоксия-подобный эффект L-аргинина. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, автор работы Марсянова Ю.А. заслуживает присуждения ей искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 Биохимия.

20 февраля 2025 г

Официальный оппонент:

и.о. руководителя лаборатории

физико-химических методов исследования

НИИ экспериментальной кардиологии

имени академика В.Н. Смирнова

ФГБУ «Национальный медицинский

исследовательский центр кардиологии

имени академика Е.И. Чазова»

Минздрава России,

доктор биологических наук (03.01.02 – Биофизика)



Тимошин Александр Анатольевич

Подпись д.б.н. Тимошина А.А. заверяю.

Учёный секретарь

НИИ экспериментальной кардиологии

ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. ак. Е.И. Чазова»

Минздрава России, доктор медицинских наук



Плеханова О.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Адрес: 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, д. 15А

Телефон: 8-495-414-61-07

Адрес электронной почты: info@cardioweb.ru

Официальный сайт: <https://www.cardio.ru/>