

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Билецкой Елены Степановны
«Кислородсвязывающие свойства крови в условиях влияния озона и
механизмы их формирования»,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 03.03.01 – физиология,
отрасли – медицинские науки

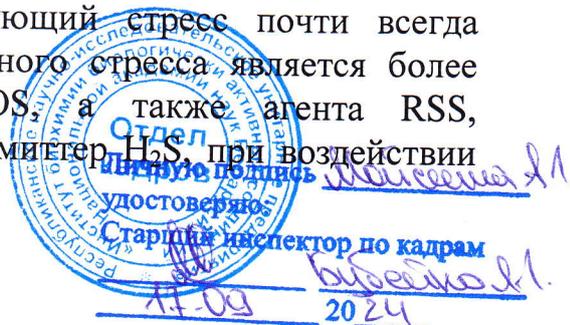
Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Направленность рассматриваемой работы соискателя
«Кислородсвязывающие свойства крови в условиях влияния озона и
механизмы их формирования» на изучение важнейшего раздела физиологии
кислород-зависимых процессов крови, взаимодействие её газотрансмиттерных
систем и формулировка цели, задач, предмета, объекта и методов
исследования соответствуют отрасли – медицинские науки и паспорту
специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность темы диссертации

В последние годы изучение кислородсвязывающих свойств крови и её
эритроцитарного компонента (эритрона) в связи с модуляцией системы
газотрансмиттеров (NO и H₂S) приобрело исключительный интерес
медицинского сообщества и отражается в многочисленных публикациях
экспериментального и клинического характера. При этом вероятные эффекты,
метаболический и терапевтический потенциал озона (O₃) недостаточно
изучены, а в отношении воздействия на кислородсвязывающие свойства крови
практически не известны. Общепринято, что озон является
свободнорадикальным компонентом активных форм кислорода (ROS) и
потенциальным стимулятором свободнорадикальных форм окисления,
инициатором окислительного стресса (OC).

Между тем распространённое понятие OC в физиологической науке
расширяется и дополняется дефиницией «Интерактома реактивных видов»
(Reactive Species Interactome - RSI) (Cortese-Krott et al. 2017), совмещающего
концепции общего адаптационного синдрома Селье и OC по представлению
Сиса (Jones, Sies, 2015). Интегрированная реакция на стресс приобретает
характер взаимодействия реактивных частиц серы (RSS), азота (RNS) и ROS,
порождающих феномен RSI, предопределяющий редокс-архитектуру многих
физиологических функций (Santolini et al. 2019). Исходя из высокой скорости
взаимодействия RNS и ROS в 3-4-кратно превосходящей катализ
супероксиддисмутазы и образование пероксинитрита (Thomas et al. 2015)
обоснованно постулируется, что нитрозилирующий стресс почти всегда
предшествует OC и понятие нитроокислительного стресса является более
обоснованным. Взаимодействие RNS и ROS, а также агента RSS,
предшественником которого является газотрансмиттер H₂S, при воздействии



озона на кислородсвязывающие свойства и окислительно-восстановительный статус крови представляет уникальный экспериментальный подход и открывает возможность реализации концепции RSI в решении актуальных научно-практических задач.

Кроме того, изучение механизмов действия озона является актуальным в связи с широкой распространенностью данного вида терапии при реабилитации пациентов с широким спектром заболеваний. Введение данного газа активирует сигналинг, окислительно-восстановительный метаболизм, улучшает NO-модулируемое кровообращение и доставку кислорода в ишемизированные ткани. Можно полагать, что воздействие озоном способно сдвигать окислительно-восстановительное равновесие метаболических систем и вызывать компенсаторную мобилизацию эндогенных антиоксидантов из депо, активизировать ферментативное звено антирадикальной защиты. Предполагаемые эффекты озона – изменение функциональных свойств гемоглобина через RSS-опосредованный путь «сероводород–цистеин–цистин» и NO-ергические механизмы, включая активацию факторов, инициирующих экспрессию NO-синтазы. Взаимодействие NO и H₂S может влиять на модификацию сродства гемоглобина к кислороду через образование различных дериватов гемоглобина, модулирование внутриэритроцитарной системы формирования кислородсвязывающих свойств крови, а также через метаболические (антиоксидантные) механизмы, определяющие функциональные свойства гемоглобина.

Особый интерес представляет исследование эффекта озона на модификацию кислородсвязывающих свойств крови в условиях воздействия на систему газотрансмиттеров (NO и H₂S) при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа, что позволит обосновать возможность применения озона во врачебной практике, конкретизирует его эффекты и может быть использовано для разработки новых способов улучшения адаптационных возможностей эритрона и его сигнальных функций при гипоксии.

Изложенные выше сведения определяют актуальность, научную (фундаментальную) и практическую значимость диссертационного исследования Билецкой Е.С.

Диссертационное исследование Билецкой Е.С. соответствует перечню приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016-2020 годы, утвержденному постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 № 190; на 2021-2025 годы, утвержденному Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156.

Степень новизны результатов диссертации и научных положений, выносимых на защиту

Результаты диссертационного исследования Билецкой Е. С. соответствуют признакам приоритетности и имеют высокую степень новизны как в отношении изучения механизма воздействия O₃ на кислородсвязывающие свойства крови и её эритроцитарного компонента и

выявлении эффектов модуляции системы газотрансмиттеров как на параметры кислородсвязывающей функции эритроцитов, так и на прооксидантно-антиоксидантный баланс, включая их изменение при различных значениях парциального давления кислорода или углекислого газа.

Конкретные результаты иллюстрируют новизну полученных результатов и выносимых на защиту положений:

- обоснован дозозависимый эффект озона (концентрации 2, 6 и 10 мг/л) на показатели кислородсвязывающих свойств крови, проявляющийся в уменьшении сродства гемоглобина к кислороду и сопровождающийся ростом содержания нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови. Показана ведущая роль непосредственно эритроцитарного звена крови в реализации эффекта озонированного изотонического раствора натрия хлорида на сродство гемоглобина к кислороду.
- выявлен выраженный сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и повышение концентрации нитрат/нитритов, сероводорода в плазме крови при добавлении озонированного изотонического раствора в кровь с одновременным введением нитроглицерина;
- установлено, что предшественники H_2S и NO (комбинация натрия гидросульфида с нитроглицерином) увеличивают влияние озона на сродство гемоглобина к кислороду и активируют антиоксидантную систему защиты крови, способствуют росту нитрат/нитритов в плазме крови. Напротив, ингибитор синтеза сероводорода пропаргилглицин при воздействии озонированного изотонического раствора натрия хлорида уменьшает показатели кислородсвязывающих свойств крови и уменьшает уровень нитрат/нитритов в плазме крови;
- доказано, что как при высоком, так и при низком парциальных давлениях углекислого газа, высоком парциальном давлении кислорода озонированный изотонический раствор натрия хлорида в условиях модуляции синтеза монооксида азота и сероводорода приводит к уменьшению сродства гемоглобина к кислороду и росту уровней нитрат/нитритов и сероводорода. Нитроглицерин в условиях действия озона при разных парциальных давлениях кислорода и низком парциальном давлении углекислого газа увеличивает показатели кислородсвязывающих свойств крови.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В исследовании четко сформулированы цель и задачи, для решения которых разработан дизайн работы. Этому служит обстоятельный обзор литературы, представляющий мини монографию по оценке эффектов озона и механизмам его воздействия и газотрансмиттеров на показатели кислородсвязывающей функции крови в экспериментальных и клинических условиях. Обращается особое внимание на анализ используемых дозировок озона, что послужило основой выбора алгоритма экспериментального исследования. Особенности каждого эксперимента представлены в схемах и

подробном описании. Практическая часть работы выполнена на смешанной венозной крови 92 лабораторных крыс, что является адекватной моделью и достаточным объемом материала для получения достоверных выводов. В работе применены современные и адекватные поставленным задачам физиологические, физические, биохимические и статистические методы. Статистическая обработка материала выполнена с помощью программ «Statistica 10».

Сделанные диссертантом выводы и заключения логичны, в полном объеме соответствуют полученным результатам, обсуждены и отражены в научных положениях, выносимых на защиту. Таким образом, диссертационное исследование Билецкой Е.С. можно считать завершенным научно-обоснованным квалификационным трудом, соответствующим требованиям кандидатской диссертации.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

В диссертации Билецкой Е. С. выявлены основные закономерности изменения кислородсвязывающих свойств и параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при воздействии озона в условиях влияния газотрансмиттеров, включая различные значения парциальных давлений углекислого газа и кислорода. Полученные экспериментальные параметры модуляции функции образования газотрансмиттеров в условиях воздействия озоном важны для адекватного обеспечения тканевых потребностей в кислороде, уменьшения степени развития оксидативных и гипоксических состояний.

Столь же важны доказанные эффекты взаимодействия газотрансмиттеров на кислородсвязывающие свойства крови, ассоциированные в результате интерактома реактивных видов и проявляющиеся в виде конкретных изменений прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и эритроцитарной массы. Это может иметь важнейшее значение для технологии изменения функциональных свойств эритрона, например, при экстракорпоральном кровообращении. Указанный раздел работы имеет мировой приоритет и является важным вкладом в развитие теории «Интерактома реактивных видов» и формирования оригинальной методологии изучения нитроокислительного стресса.

На основании результатов представленной работы получен патент Республики Беларусь на изобретение «Способ снижения сродства гемоглобина к кислороду» (№ а 20210210 от 28.02.23) и 6 удостоверений на рационализаторские предложения.

Экономическая и социальная значимость работы обусловлена перспективой использования полученных экспериментальных данных по применению озона для коррекции кислородсвязывающих свойств крови, опосредованной системой газотрансмиттеров при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа, обосновывают его использование в

качестве фактора коррекции гипоксических состояний и нарушений окислительно-восстановительного равновесия в кровообращении.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ: из них 11 статей в научных рецензируемых журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий (7,85 авторских листа), 8 из которых опубликованы в зарубежных журналах, 28 публикаций в рецензируемых научных сборниках, а также в сборниках материалов и тезисов докладов научных конференций (4,55 авторских листа), 1 патент Республики Беларусь на изобретение (0,26 авторских листа). Объем всех опубликованных материалов по теме диссертации составляет 12,7 авторских листа. Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа оформлена в соответствии с Инструкцией о порядке оформления диссертации, диссертации в виде научного доклада, автореферата диссертации и публикаций по теме диссертации, утвержденной постановлением ВАК Республики Беларусь 28.02.2014 № 3 (в редакции постановления ВАК Республики Беларусь 22.08.2022 № 5).

Диссертация изложена на 145 страницах компьютерного текста. Имеет традиционное строение, которое включает содержание, перечень сокращений и обозначений, введение, общую характеристику работы, аналитический обзор литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы с изложением собственных результатов исследования, главу анализ и обсуждение полученных результатов, заключение, список использованных источников, список публикаций соискателя ученой степени и приложений. Библиографический список включает 208 источников (из них 79 – на русском языке и 129 – на иностранных языках), список публикаций соискателя ученой степени – 40 работ. Диссертационная работа иллюстрирована 29 рисунками, содержит 17 таблиц, включает 3 приложения.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы и отражает основные результаты и положения диссертации, выносимые на защиту.

Замечания по диссертации

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. В работе встречаются единичные стилистические неточности, повторы и опечатки, не влияющие на положительную оценку научной работы и её оформление. В порядке обсуждения полученных результатов необходимо пояснение следующих вопросов:

1. Чем обусловлен выбор нитроглицерина, а не натрия нитропруссид в качестве источника NO, несмотря на то, что нитропруссид обладает свойством активирования цистатинин-бета-синтазы и продукции H₂S (смотри рисунок 1.4 на с. 29 диссертации) и классическим предшественником NO?

2. Необходимо пояснение роли и механизма эффекта Бора в реализации действия озона при разном парциальном давлении кислорода и углекислого газа, в частности, по изменению характера сдвига кривой диссоциации

оксигемоглобина.

3. Почему препарат L-NAME не проявляет свой эффект на показатели кислородсвязывающих свойств крови в условиях модуляции синтеза монооксида азота и при действии озонированного изотонического раствора?

4. Чем объясняются разнонаправленные сдвиги активности каталазы в суспензии эритроцитов при воздействии озона и доноров газотрансмиттеров?

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую претендует диссертант

Представленные результаты диссертационного исследования, выводы и рекомендации по практическому использованию, число и репрезентативность публикаций, доложенность материалов научному сообществу, приоритетность исследования, внедрение результатов в учебный процесс подтверждают, что научная квалификация Билецкой Елены Степановны соответствует ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.01 – физиология, отрасли – медицинские науки.

Заключение

Диссертационная работа Билецкой Е.С. «Кислородсвязывающие свойства крови в условиях влияния озона и механизмы их формирования», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.01 – физиология, является завершенной научно-квалификационной работой, содержащая решение важных научных задач, имеющих существенное значение для физиологии кровообращения и соответствует требованиям пунктов 20, 21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17.11.2004 № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 23.06.2023 № 180).

Ученую степень кандидата медицинских наук Билецкой Е.С. следует присудить за:

- доказательство дозозависимого влияния озона *in vitro* на сродство гемоглобина к кислороду, проявляющегося сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и сопровождающегося увеличением уровня газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода в плазме крови;
- выявление характера модуляции влияния озона на кислородсвязывающие свойства крови и показатели окислительно-восстановительного баланса при воздействии предшественников и ингибиторов монооксида азота и сероводорода;
- определение значения взаимосвязи газотрансмиттеров и эритроцитарного компонента крови в реализации влияния озона на кислородсвязывающие свойства крови;
- оценку особенностей действия озона на кислородсвязывающие свойства крови и окислительно-восстановительный баланс при различных парциальных

давлениях кислорода и углекислого газа в условиях модуляции синтеза монооксида азота и сероводорода.

Выражаю согласие на размещение отзыва на официальном сайте учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» и в глобальной компьютерной сети Интернет.

Официальный оппонент

заведующий Отделом витаминологии и нутрицевтики
Республиканского научно-исследовательского
унитарного предприятия

«Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»,

член-корреспондент НАН Беларуси, профессор,
доктор биологических наук

« 17 » сентября 2024 г

А.Г.Мойсеёнок А.Г.Мойсеёнок

Личную подпись
удостоверяю
Старший инспектор по кадрам

