

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Доктора медицинских наук, доцента, заведующего лабораторией висцеральных систем им. К.М. Быкова «Института экспериментальной медицины» Евлахова Вадима Ивановича на диссертацию Волковой Елены Леонидовны на тему: «Механизмы действия доноров оксида азота и сероводорода и субстратов их синтеза на микрореологические характеристики эритроцитов в норме и при патологии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных в диссертационный совет 24.1.137.01 (Д 002.020.01) по защите докторских и кандидатских диссертаций при ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Актуальность темы диссертационной работы

Негативные изменения вязкости крови, которые наблюдаются при различных нарушениях здоровья, усугубляют течение патологических процессов и затрудняют их терапевтическую коррекцию. Одними из самых распространенных патологических состояний в современном мире являются артериальная гипертония и избыточная масса тела. По данным статистики, указанными заболеваниями страдают порядка 50% взрослого населения России. Исследование способов коррекции транспортных возможностей крови при подобных состояниях, а именно: восстановление ее нормальной текучести, требует анализа вклада каждой реологической составляющей (гематокрита, вязкости плазмы, агрегации эритроцитов, деформации эритроцитов, а также величины скорости сдвига) определяющей вязкость цельной крови. Особый интерес представляет изменчивость микрореологических свойств эритроцитов, которая проявляется в ответ на различные физиологические стимулы. Возможность изменения микрореологии эритроцитов паракринным и аутокринным путем за счет действия эндогенно синтезируемых сигнальных молекул, например, газотрансмиттеров, открывает перспективы для изучения молекулярных механизмов регуляции реологических свойств крови и микрореологии эритроцитов, а также понимания роли газовых медиаторов в регуляции микроциркуляции как в нормальных условиях, так и при патологии.

Влияние газовых медиаторов (NO, H₂S и CO) на функции разных клеток организма, интенсивно изучается. Однако следует отметить, что в проводимых исследованиях мало уделено внимания самой многочисленной популяции клеток организма человека – эритроцитам и их микрореологическим ответам на газотрансмиттеры. Особенно это касается сульфида водорода (H₂S). Диссертационное исследование Е.Л. Волковой существенно восполняет этот пробел.

Все вышесказанное подтверждает значимость данного диссертационного исследования, а также его вклад в понимание регуляторных механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов и крови в целом под действием доноров газотрансмиттеров (оксида азота и сероводорода) и субстратов их синтеза.

Степень обоснованности основных положений и выводов

Соискателем Волковой Е.Л. была поставлена цель – изучить влияние микрореологических свойств эритроцитов на текучесть крови и ее транспортный потенциал, а также выполнить анализ микрореологических изменений эритроцитов под влиянием газотрансмиттеров у здоровых людей, у лиц с артериальной гипертензией (АГ) и с избыточной массой тела (ИзбМТ).

Для достижения цели исследования автором диссертационной работы был создан ряд адекватных моделей анализа микрореологических ответов эритроцитов на газотрансмиттеры как в нормальных физиологических условиях, так и при патологии: при артериальной гипертензии и избыточной массе тела. Набор современных методов: вискозиметрия цельной крови, суспензий эритроцитов и плазмы, при разных скоростях и напряжениях сдвига, регистрация микрореологических свойств эритроцитов с применением агрегатометрии и микрофлюидных методов, а также корректная статистическая обработка полученных результатов, позволят заключить, что задачи, поставленные Волковой Е.Л. в диссертационной работе, успешно решены.

Выводы, сделанные по результатам исследования, были обсуждены на основе литературных данных и обоснованы тщательным статистическим анализом. Сформулированные положения, выносимые на защиту, основаны на экспериментальных данных проведенного исследования и согласуются с поставленной целью, задачами и выводами по работе.

Достоверность и научная обоснованность результатов

Достоверность полученных результатов обеспечивается хорошо организованными протоколами исследования, применением современной, точной аппаратуры для регистрации изучаемых характеристик и достаточными размерами статистических выборок в каждой серии опытов.

Методы изучения макро - и микрореологических параметров крови и эритроцитов актуальны, объективны и подобраны в соответствии с поставленной целью. Экспериментальные модели, использованные в работе, адекватны задачам каждой серии опытов, имеют аналоги в литературе и хорошо воспроизводимы. Все это позволило Волковой Е.Л. получить данные, позволяющие заключить, что задачи исследования решены, и цель исследования достигнута.

Научная новизна полученных результатов работы и сделанных выводов

В рамках настоящего исследования впервые удалось количественно оценить влияние неньютоновских свойств крови на состояние её текучести и транспортного потенциала, как у здоровых лиц, так и у пациентов с артериальной гипертонией и избыточной массой тела. Для эффективного изучения воздействия доноров газотрансмиттеров и субстратов их эндогенного синтеза на микрореологические характеристики эритроцитов автором диссертации был проанализирован ряд экспериментальных клеточных моделей, которые могут быть использованы для оценки биологической эффективности новых соединений. В исследовании показано, что коррекция микрореологических

нарушений возможна не только за счет действия доноров газотрансмиттеров, но и через активацию их эндогенного синтеза с использованием аминокислот L-аргинина и L-цистеина.

Впервые удалось охарактеризовать комплекс молекулярных механизмов, опосредующих действие газотрансмиттеров на клетки крови. В частности: выявлена роль отдельных звеньев внутриклеточных сигнальных каскадов; продемонстрировано функциональная взаимосвязь сигнальных путей оксида азота и сульфида водорода; впервые показано участие гуанилатциклазы и кальцийзависимых калиевых каналов (Гардош-каналов) в ответе эритроцитов на воздействие сероводорода.

Теоретическая и практическая значимость результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Теоретическое значение представленной работы определяется тем, что ее результаты дополняют и расширяют современные знания о физиологической роли относительно нового класса регуляторных молекул – газовых медиаторов в регуляции кровообращения на уровне крови и микроциркуляции. Существенное значение имеет использование метода регрессионного анализа, позволяющего оценить (в процентах) вклад агрегации и деформируемости, как зависимых переменных, в вязкость цельной крови и ее транспортную функцию у людей, страдающих артериальной гипертонией и избыточной массой тела. Проведение расчета однофакторных регрессионных моделей, при котором возможно прогнозировать текучесть крови в зависимости от изменения деформируемости эритроцитов (переменная величина) имеет также практическое применение и может быть востребовано при проведении гемотрансфузионной терапии, а также при использовании в искусственных системах кровообращения. Изученные механизмы микрореологических ответов эритроцитов на действие доноров газотрансмиттеров и субстратов их синтеза, в свою очередь, делает возможным применение NO и H₂S для коррекции нарушенных вязкоэластических свойств клеточной мембраны эритроцитов.

Апробация работы и публикации

Основные результаты диссертационного исследования представлены на десяти международных и всероссийских конференциях. По теме диссертации опубликовано 23 работы, две из которых – в журналах рекомендованных ВАК.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация Волковой Е.Л. построена по традиционной схеме и содержит «Оглавление», «Перечень условных обозначений», «Введение», «Обзор литературы», «Организация и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов исследования» «Выводы» и «Список литературы». Работа изложена на 161 странице машинописного текста, иллюстрирована 29 таблицами и 56 рисунками. Список литературы состоит из 254 источников и содержит 45 отечественных и 209 зарубежных источников.

В разделе «Введение» обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель, задачи и положения, выносимые на защиту, указана новизна, практическая и теоретическая значимость полученных данных исследования, представлена информация об их апробации.

В главе 1 «Обзор литературы» анализируются сведения о крови как одной из жидких внутренних сред организма, обладающей неньютоновскими свойствами. Рассматривается природа неньютоновости и ее роль при выполнении транспортной функций крови. Подробно описано влияние компонентов, вносящих вклад в комплексную величину крови (вязкости или величины обратной ей – текучести): гематокрита, вязкости плазмы, микрореологических характеристик эритроцитов (агрегации и деформируемости) и обозначена проблема комплексной оценки вязкости крови в норме и при патологии. Отдельное внимание уделяется способности эритроцитов изменять свои микрореологические свойства под действием сигнальных молекул, особое место среди которых занимают газотрансмиттеры оксид азота и сульфид водорода.

В главе 2, состоящей из семи разделов, автор подробно описывает организацию и методы исследования, которые применялись в процессе работы, обосновывает формирование экспериментальных групп, излагает этапы проведения подготовительных работ, предшествующих методам оценки микрореологических характеристик эритроцитов, а именно измерению агрегации эритроцитов и работе с проточной микрокамерой, для оценки деформируемости клеток и их теней. Приводит методику получения «теней эритроцитов». В главе приведен перечень биологически активных веществ с указанием рабочих концентраций и перечислены статистические методы анализа полученных результатов.

Основная часть диссертации - глава 3 «Результаты собственных исследований» состоит из двух подглав. Первая подглава посвящена анализу параметров гемореологических профилей и их изменений при действии доноров газотрансмиттеров и субстратов их синтеза у здоровых людей, лиц с артериальной гипертензией и лиц с избыточной массой тела. Во второй подглаве Волкова Е.Л. приводит результаты исследования механизмов и сигнальных молекулярных путей, ассоциированных с изменениями микрореологических характеристик эритроцитов под действием доноров газотрансмиттеров.

В 4 главе «Обсуждение результатов исследования» проведен подробный анализ полученных результатов выявлены основные тенденции и взаимосвязи. Рассмотрены вопросы, касающиеся изменения транспортного потенциала крови в условиях негативно измененных реологических свойств крови при патологии, а также величины вклада основных гемореологических характеристик в текучесть крови при этих условиях. Приводятся результаты расчета коэффициентов детерминации и их сравнительный анализ для всех экспериментальных групп. Анализируются закономерности положительных микрореологических ответов эритроцитов на действие доноров оксида азота и сероводорода и субстратов их синтеза во всех исследуемых группах.

Выводы, их 5, полностью основаны на результатах проведенного исследования, сформулированы лаконично и методологически корректно. Со-

держание диссертации полностью отражено в автореферате и соответствует специальности 1.5.5 - физиология человека и животных.

Вопросы и замечания

1. Известно, что кроме концентрации соединений, применяемых в экспериментальной практике, на результат опыта влияет и длительность инкубации суспензий клеток с препаратом. Как подбиралось время воздействия доноров газотрансмиттеров и других соединений на суспензии эритроцитов в ваших опытах?

2. Как влияет изменение степени неньютоновского поведения крови на ее текучесть и транспортные возможности?

3. С какой целью было проведено исследование микрореологических ответов восстановленных «теней эритроцитов» на доноры газотрансмиттеров?

4. В тексте диссертации имеются незначительные опечатки, не влияющие на ценность научного исследования.

Указанные выше замечания и вопросы не ставят под сомнение актуальность и новизну полученных результатов и не умаляют научную ценность диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертация Волковой Елены Леонидовны на тему «Механизмы действия доноров оксида азота и сероводорода и субстратов их синтеза на микрореологические характеристики эритроцитов в норме и при патологии» является законченной самостоятельной работой, в которой поставлены и решены задачи в рамках научной специальности 1.5.5. - Физиология человека и животных. Актуальность темы, объем выполненного исследования, методические подходы для решения задач исследования, научная новизна, теоретиче-

ская и практическая значимость результатов исследования, выводы, сделанные по работе, позволяют заключить, что диссертация Волковой Е.Л. «Механизмы действия доноров оксида азота и сероводорода и субстратов их синтеза на микрореологические характеристики эритроцитов в норме и при патологии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных, полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 с изменениями на 16 октября 2024 года, в редакции, действующей с 01 января 2025 года, а ее автор Волкова Е.Л. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (научная специальность, по которой защищена докторская диссертация 03.00.13 – Физиология), доцент, заведующий лабораторией физиологии висцеральных систем им. К.М. Быкова Федерального государственного бюджетного научного учреждения Института экспериментальной медицины.



Евлахов Вадим Иванович

Адрес места работы: 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

Телефон: 8 (812) 234-68-68

Электронная почта: evlakhov.vi@iemspb.ru

« 16 » апреля 2026г.

Подпись В.И. Евлахова заверяю:

« 16 » апреля 2026г.

