

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Зарипова Павла Ильдаровича
на тему: «Механизмы редокс-регуляции при адаптации
эритроцитов к стрессовым воздействиям» по специальностям
1.5.2. Биофизика и 1.5.5. Физиология человека и животных
(биологические науки).
Актуальность избранной темы**

Тематика диссертационного исследования Зарипова П.И. связана с исследованием механизмов адаптации эритроцитов к различным стрессовым влияниям, таким как гипоксия, метаболический стресс, снижение осмолярности крови, механический стресс и повышенное содержание бета-амилоидов в крови. Эритроциты – одни из самых распространенных клеток нашего организма, которые в течение своей жизни подвергаются различным воздействиям, включая гипоксию при перемещении с кровотоком к различным органам, механический стресс при прохождении капилляров и синусов селезенки, метаболический стресс при снижении уровня глюкозы в крови. Актуальность исследования обусловлена целым рядом важных факторов. Во-первых, широкая распространённость патологий, связанных с нарушением функции эритроцитов. Анемии различной этиологии затрагивают сотни миллионов людей по всему миру. Причина таких состояний часто кроется в нарушении функциональной активности или сокращении продолжительности жизни эритроцитов. Во-вторых, недостаточная изученность механизмов адаптации эритроцитов к стрессам. Несмотря на ключевую роль эритроцитов в обеспечении организма кислородом, механизмы изменения их редокс-статуса (баланса между восстановленными и окисленными формами молекул) под действием различных стрессовых факторов (гипоксии, метаболического, осмотического и механического стресса) изучены крайне слабо. В-третьих, под действием стрессовых факторов в эритроцитах может увеличиваться концентрация активных форм кислорода (АФК), при этом окислительное повреждение ограниченного запаса белков и липидов эритроцитов может приводить к

преждевременному старению клеток и снижению их функциональной активности.

Отмечу, что изучение механизмов редокс-регуляции эритроцитов — это не только фундаментальная научная задача, но и актуальное направление для практической медицины, способное привести к разработке новых терапевтических стратегий для широкого спектра заболеваний. Полученные результаты могут стать основой для создания инновационных методов для улучшения кислородтранспортной функции крови и повышения устойчивости организма к неблагоприятным факторам среды. Зарипов П.И. ставит целью выявить механизмы редокс-регуляции эритроцитов в норме и при адаптации к физиологическим стрессовым воздействиям. Всё вышеперечисленное указывает на безусловную актуальность научного исследования, проведенного Зариповым П.И.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений и выводов диссертации П. И. Зарипова обеспечена применением современной научно-методической базы. В рамках исследования реализовано грамотное планирование эксперимента, использованы высокотехнологичные методы анализа и адекватные статистические процедуры обработки данных.

Надёжность результатов обусловлена логичной структурой исследования и привлечением исчерпывающего массива экспериментальных данных. Сформулированные выводы и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют поставленной цели и задачам работы, базируются на оригинальных данных, самостоятельно собранных и проанализированных автором.

Достоверность и новизна положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность научных положений и выводов диссертационного исследования Зарипова П.И. не вызывает сомнений и подтверждается

комплексом объективных факторов. Прежде всего, все полученные автором результаты характеризуются воспроизводимостью, дизайн исследования и применяемые методы работы детально описаны. Достоверность результатов исследования, выводов и положений, выносимых на защиту, основывается на достаточном по объему репрезентативном материале, использовании современных методов исследования и статистической обработки данных. Кроме того, достоверность результатов исследования Зарипова П.И. подтверждается достаточным количеством публикаций по теме диссертации. Результаты работы опубликованы в 4 научных статьях в рецензируемых журналах, из которых 2 вышли в российских журналах и 2 – в иностранных. Отмечу, что среди публикаций присутствуют статьи в высокорейтинговых журналах, включая журнал *Redox Biology*. Также результаты исследования Зарипова П.И. были представлены в виду устных докладов на нескольких научных конференциях.

В ходе исследования автором впервые получены комплексные данные, позволяющие всесторонне оценить влияние стрессовых воздействий на состояние и функциональную активность эритроцитов, а также выявить ранее неизвестные механизмы их адаптации. Впервые для этой цели применён интегративный подход, включающий оценку комплекса ключевых параметров, таких как морфологические характеристики клеток (размер и форма); ионного баланса, редокс-статуса эритроцитов и степени глутатионилирования гемоглобина (Hb). Помимо этого, автором впервые было показано, что в адаптации эритроцитов к гипоксии, метаболическому, осмотическому и механическому стрессам, а также к воздействию бета-амилоидного пептида (A β 42) решающую роль играют взаимодействия Hb с глутатионом. Помимо этого, новаторским результатом исследования стало выявление многофакторной регуляции взаимодействия Hb с глутатионом. Впервые установлено, что этот процесс зависит не только от уровня окислительного стресса, но и от ряда других внутри- и внеклеточных факторов, среди которых деоксигенация, снижение уровня АТФ вследствие

депривации глюкозы, связывание бета-амилоидных пептидов с поверхностью эритроцитов.

Таким образом, в работе впервые раскрыт комплексный механизм, в котором взаимодействие гемоглобина с глутатионом выступает в качестве одного из ключевых регуляторов. Этот механизм обеспечивает адаптивный ответ эритроцитов на меняющиеся условия внутренней среды организма. Полученные данные существенно расширяют существующие представления о молекулярных основах адаптации эритроцитов и открывают новые направления для исследований в области гематологии и редокс-биологии.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Результаты диссертационного исследования Зарипова Р.И. расширяют существующие представления о механизмах адаптации эритроцитов к различным стрессовым воздействиям. Научная новизна полученных результатов базируется на следующих фактах. В ходе проведенного исследования впервые было установлено, что взаимодействие гемоглобина (Hb) с глутатионом (GSH) и редокс-статус играют ключевую роль в механизмах адаптации эритроцитов к разнообразным стрессовым воздействиям. Обнаружена и детально охарактеризована способность гемоглобина депонировать восстановленный глутатион посредством формирования нековалентного комплекса Hb:GSH, при этом изучены структурные и функциональные свойства данного комплекса.

Теоретическая и практическая значимость диссертации Зарипова П.И. основывается на том, что продемонстрировано влияние метаболического статуса эритроцитов на степень глутатионилирования гемоглобина, что непосредственно регулирует его сродство к O₂ и оптимизирует транспорт кислорода в стрессовых условиях. Впервые обоснована роль бета-амилоидных пептидов (A β 42 и изоA β 42) как потенциальных регуляторов функциональной активности эритроцитов, что открывает новые перспективы для изучения их участия в физиологических и патологических процессах. Кроме этого, показана роль глутатионилирования Hb в адаптации

эритроцитов к типичным физиологическим стрессам, включая гипоксию, метаболический, осмотический и механический стресс. Впервые описан молекулярный механизм повышения уровня GSH в эритроцитах при гипоксии, который обусловлен конформационным переходом гемоглобина из оксигенированной в деоксигенированную форму. Данный процесс имеет принципиальное значение для защиты клеток от окислительного стресса в условиях дефицита кислорода.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Зарипова П.И. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа богато иллюстрирована 55 рисунками и 2 таблицами. Список литературы обширен и включает 312 источников. Диссертация аккуратно и грамотно оформлена.

Диссертационная работа Зарипова П.И. не вызывает существенных замечаний в части представления и изложения материала. Особое хочется отметить методический раздел, выполненный на высоком профессиональном уровне: в нём детально и последовательно изложены протоколы проведённой экспериментальной работы, подробно описаны методики анализа полученных данных. Результаты исследования полно и структурированно представлены в соответствующем разделе диссертации. Они наглядно проиллюстрированы рисунками и таблицами, которые органично дополняют текстовое описание и облегчают восприятие ключевых научных результатов. Сформулированные выводы логично вытекают из представленных экспериментальных данных, полностью базируются на результатах, полученных автором лично, и находятся в строгом соответствии с изначально поставленными целями и задачами исследования. Полученные результаты обладают значительной научной и практической ценностью: они вносят вклад в развитие фундаментальных знаний в соответствующей области и создают основу для прикладных разработок, способных найти

применение в реальной практике. Автореферат в полной мере отражает основные положения и ключевые результаты диссертационного исследования. Опубликованные по теме работы корректно репрезентируют научные достижения, полученные в ходе исследования. Перечень этих публикаций размещён в заключительной части автореферата. В целом, диссертация Зарипова П.И. представляет собой целостное и комплексное междисциплинарное исследование и оставляет исключительно положительное впечатление. Работа отличается качественным оформлением, выверенностью, изложена ясным, научным языком.

Принципиальных замечаний к оппонируемой диссертационной работе у меня нет. Однако считаю необходимым указать на некоторые недочеты и задать вопросы.

Вопросы:

1. В состав используемого в работе буфера, имитирующего плазму крови, входит глюкоза в концентрации 10 мМ. Это концентрация выше установленных норм и скорее соответствует гипергликемическому состоянию. Почему в работе была использована именно такая концентрация глюкозы, а не, например, 5.5 мМ?
2. В тексте диссертации не указаны возраст и характеристики доноров крови, из которой получали эритроциты. В частности, не указан пол доноров, их средний или медианный возраст. Как Вы считаете, может ли фактор пола оказывать влияние на те процессы, которые Вы изучали в своей работе? Также диапазон возраста доноров, указанный в тексте автореферата, довольно широк (от 18 до 50 лет). Как Вы считаете, может ли фактор возраста доноров влиять на исследуемые в Вашей работе параметры?
3. На стр. 16 текста диссертации автор пишет, что в ходе старения происходит изменение деформируемости эритроцитов. Проводили ли Вы оценку, какой процент «старых» эритроцитов присутствовал в Ваших выборках?

4. В работе использовали достаточно «жесткие» воздействия, например, механический стресс вызывали пропусканием эритроцитов через фильтр с диаметром пор всего 1.2 мкм, осмолярность среды изменяли с 330 до 250 мОсм/л. Не происходил ли гемолиз части эритроцитов при таких воздействиях? Оценивали ли Вы каким-то образом гемолиз при моделировании различных стрессорных воздействий?

Замечания:

1. На рисунке 2 в обратную сторону нарисованы стрелки, обозначающие направление тока ионов калия через KCNN4 канал.
2. Несмотря на то, что в целом текст диссертации изложен хорошим научным языком, все же в нем присутствуют опечатки и пунктуационные ошибки.
3. В подписи ко многим рисункам в разделе «Результаты и их обсуждение» (например, рисунки 13-14) автор пишет про нормирование результатов на значения в контрольной группе: «За 100% принято значение исследуемых параметров в нормоксии». С точки зрения оппонента это не совсем точно, не хватает указания, какое значение в группе было принято за 100% - среднее, медианное или какое-то другое.

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.2. Биофизика и 1.5.5. Физиология человека и животных (биологические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на

соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Зарипов Павел Ильдарович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.2. Биофизика и 1.5.5. Физиология человека и животных (биологические науки).

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
кафедры физиологии человека и животных
биологического факультета
Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»

Гайнуллина Дина Камилевна

7
05.06.2026

Контактные данные:

тел.: '

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.03.01 – Физиология

Адрес места работы:

119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова», биологический факультет, кафедра физиологии человека
и животных

Тел.: '

Подпись сотрудника _____