

Заключение диссертационного совета МГУ.011.9.

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «18» сентября 2025г. №7

О присуждении Грачеву Дмитрию Ивановичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Взаимодействие нитрозильных комплексов гемового и негемового железа с активными формами кислорода и азота» по специальности 1.5.2. Биофизика (физико-математические науки) принята к защите диссертационным советом МГУ.011.9., 22.05.2025, протокол № 5.

Соискатель Грачев Дмитрий Иванович, 1995 года рождения, в 2018 году окончил магистратуру физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по направлению 03.04.02 «Физика». В 2022 году успешно освоил программу подготовки в аспирантуре по направлению по направлению Биологические науки.

Грачев Дмитрий Иванович работает соискателем в Ереванском Государственном Университете, Институте физики, на кафедре молекулярной физики.

Диссертация выполнена на кафедре Биофизики отделения экспериментальной и теоретической физики физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Научные руководители – доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник Федерального государственного

бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт экспериментальной кардиологии им. ак. В.Н. Смирнова, лаборатория физико-химических методов исследования, Рууге Энно Куставич; доктор биологических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Шумаев Константин Борисович.

Официальные оппоненты:

- Власова Ольга Леонардовна, доктор физико-математических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», директор Высшей школы биомедицинских систем и технологий.
- Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, профессор, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», центр фотоники и фотонных технологий, профессор.
- Проскуряков Иван Игоревич, доктор физико-математических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, и.о. заведующего лабораторией молекулярной спектроскопии, ведущий научный сотрудник.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их компетентностью в области биофизики белков и металлокомплексов, а также в изучении

механизмов взаимодействия активных форм кислорода и азота с биологическими системами. Оппоненты имеют большое число публикаций в соответствующей сфере исследования, опубликованных в высокорейтинговых журналах. Оппоненты не имеют совместных проектов и публикаций с соискателем.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 4 работы, из них 4 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.2. Биофизика.

[A1] Шумаев К.Б, Грачев Д.И., Космачевская О.В., Топунов А.Ф., Рууге Э.К. Восстановительное нитрозилирование гемоглобина и миоглобина и его антиоксидантное действие // Биофизика. – 2024. – Т. 69. – №. 2. – С. 230-236. DOI: 10.31857/S0006302924020027 Двухлетний импакт-фактор РИНЦ: 1,166. Объем: 0,75 п.л. / Вклад соискателя: 0,35 п.л.

Переводная версия статьи:

Shumaev K.B., Grachev D.I., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F., Ruuge E. K. Reductive Nitrosylation of Hemoglobin and Myoglobin and its Antioxidant Effect // Biophysics. – 2024. – Т. 69. – №. 2. – С. 195-200. DOI: 10.1134/S0006350924700210 SJR=0.19 (Scopus). Объем: 0,7 п.л. / Вклад соискателя: 0,3 п.л.

[A2] Грачев Д.И., Шумаев К.Б, Космачевская О.В., Топунов А.Ф., Рууге Э.К. Нитрозильные комплексы гемоглобина в различных модельных системах // Биофизика. – 2021. – Т. 66. – №. 6. – С. 1056-1064. DOI: 10.31857/S0006302921060028 Двухлетний импакт-фактор РИНЦ: 1,166. Объем: 0,9 п.л. / Вклад соискателя: 0,6 п.л.

Переводная версия статьи:

Grachev D.I., Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F., Ruuge E.K. Nitrosyl complexes of hemoglobin in various model systems // Biophysics. – 2021. – Т. 66. – №. 6. – С. 897-904. DOI: 10.1134/S000635092106004X SJR=0.19 (Scopus). Объем: 0,8 п.л. / Вклад соискателя: 0,5 п.л.

[A3] Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Грачев Д.И., Тимошин А.А., Топунов А.Ф., Ланкин В.З., Рууге Э.К. Возможный механизм антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа // Биомедицинская химия. – 2021. – Т. 67. – №. 2. – С. 162-168. DOI: 10.18097/PBMC20216702162 SJR=0.22 (Scopus). Двухлетний импакт-фактор РИНЦ: 0,942. Объем: 0,8 п.л. / Вклад соискателя: 0,2 п.л.

Переводная версия статьи:

Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Grachev D.I., Timoshin A.A., Topunov A.F., Lankin V.Z., Ruuge E.K. A possible mechanism of the antioxidant action of dinitrosyl iron complexes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2021. – Т. 15. – С.313-319. DOI: 10.1134/S1990750821040090 SJR= 0.2 (Scopus), JIF=0.6 (WoS). Объем: 0,7 п.л. / Вклад соискателя: 0,15 п.л.

[A4] Грачев Д.И., Дудылина А.Л., Титов В.Н., Рууге Э.К. Физико-химические особенности сывороточного альбумина и мембран эритроцитов в норме и при проявлениях сердечной недостаточности // Биофизика. – 2019. – Т. 64. – №. 5. – С. 898-905. DOI: 10.1134/S0006302919050090 Двухлетний импакт-фактор РИНЦ: 1,166. Объем: 0,8 п.л. / Вклад соискателя: 0,4 п.л.

Переводная версия статьи:

Grachev D.I., Dudylyna A.L., Titov V.N., Ruuge E.K. The Physicochemical Characteristics of Serum Albumin and Erythrocyte Cell Membranes under Normal and Heart Failure Symptom Conditions // Biophysics. – 2019. – Т. 64. – С.721-728. DOI: 10.1134/S0006350919050051 SJR=0.19 (Scopus). Объем: 0,7 п.л. / Вклад соискателя: 0,35 п.л.

Иные статьи в рецензируемых изданиях:

[A5] Грачев Д.И., Медведева В.А., Шумаев К.Б., Ланкин В.З., Рууге Э.К. Динитрозильные комплексы железа как ингибиторы перекисного окисления липидов // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2022. – Т. 7. -№4. - С. 600–603. DOI: 10.29039/rusjbpc.2022.0567

[A6] Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Топунов А.Ф., Грачев Д.И., Насыбуллина Э.И., Пугаченко И.С., Рууге Э.К. Новые варианты динитрозильных комплексов железа: антиоксидантное и антирадикальное действие // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2022. – Т. 7. – №. 4. – С. 624-627. DOI: 10.29039/rusjbpc.2022.0572

[A7] Грачев Д.И., Шумаев К.Б., Медведева В.А., Фефлер А.С., Космачевская О.В., Рууге Э.К. Взаимодействие различных нитрозильных комплексов гемоглобина с активными формами кислорода и азота // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2021. – Т. 6. – №. 3. – С. 477-481.

На диссертацию и автореферат поступило 7 дополнительных отзывов, все положительные.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика (физико-математические науки) является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований был решён ряд фундаментальных вопросов взаимодействия нитрозильных комплексов железа с активными формами кислорода и азота. Диссертация посвящена изучению механизмов взаимодействия динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), в том числе связанных с гемоглобином, и нитрозилированных по гемовому железу гемопротеинов с активными формами кислорода, азота и галогенов, а

также редокс-реакций с участием гемоглобина. В работе показаны различия микровязкости мембран эритроцитов при разных коэффициентах анизотропии и под действием гипохлорита. Методом ЭПР установлено разрушение низкомолекулярных ДНКЖ при гемолизе и в модельных системах, сопровождающееся антиоксидантным эффектом. Выявлен механизм действия глутатион-содержащих и связанных с гемоглобином ДНКЖ против пероксинитрита и других прооксидантов. Продемонстрировано антиоксидантное и антирадикальное действие ДНКЖ в системах с гемопротеинами, ЛПНП и лецитиновыми липосомами. Впервые показана роль восстановительного нитрозилирования оксоферрильных форм гемопротеинов в условиях окислительного стресса. Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные экспериментальные результаты, а также сопоставление собственных и литературных данных расширяют представления о механизмах взаимодействия динитрозильных комплексов железа с активными формами кислорода и азота и обосновывают перспективы их использования в качестве антиоксидантных агентов. Практическая значимость работы определяется возможностью использования полученных результатов для разработки новых подходов к коррекции окислительного стресса в биологических системах. Установленные механизмы антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа могут быть положены в основу создания эффективных антиоксидантных средств, а также применены при разработке стратегий защиты клеточных структур от повреждений, индуцированных активными формами кислорода и азота. Результаты работы включают:

1. С помощью спиновых меток показано, что в образцах крови пациентов из групп с нормальным и повышенным коэффициентом анизотропии эритроцитов достоверно различается микровязкость мембран эритроцитов (на 3%, $p < 0,05$, $n = 57$).

2. Показано образование в эритроцитах нитрозильных гемовых групп гемоглобина и связанных с данными белком динитрозильных комплексов железа, причём концентрация последних снижается в условиях, моделирующих окислительный стресс при острой воспалительной реакции.
3. По сигналам ЭПР парамагнитных глутатион-содержащих и связанных с гемоглобином ДНКЖ показан механизм их антиоксидантного действия в отношении различных прооксидантных соединений, таких как пероксинитрит.
4. В системах, моделирующих окислительный стресс, определено, что ДНКЖ, связанные с гемоглобином или глутатионом, снижают уровень спиновых аддуктов DEPMPO с органическими свободными радикалами на 60 и 26 %, соответственно.
5. Установлено, что глутатионовые ДНКЖ ингибируют свободнорадикальное окисление липидов. В концентрации 20 мкМ ДНКЖ снижают начальную скорость накопления липопероксидов в ходе Cu^{2+} -индуцированного свободнорадикального окисления ЛПНП в 10,3 раза и увеличивают период индукции этого процесса в 3,5 раза. При соокислении лецитиновых липосом и глюкозы ДНКЖ в концентрации 75 мкМ снижают светосумму (выход) люминол-зависимой хемилюминесценции в 8,1 раза и увеличивают период индукции хемилюминесценции в 6,3 раза.
6. Продемонстрировано, что нитроксильный анион может действовать как антиоксидант благодаря восстановительному нитрозилированию гемовых групп миоглобина и гемоглобина, в том числе, восстановлению оксоферрильных форм этих гемопротеинов и предотвращению образования алкильных, алкоксильных и алкилпероксильных радикалов при распаде гидропероксида *трет*-бутила.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту,

содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Микровязкость мембран эритроцитов достоверно различается в зависимости от коэффициента анизотропии эритроцитов, а также в присутствии и отсутствии гипохлорита.
2. В ходе индуцированного гипохлоритом гемолиза эритроцитов происходит разрушение динитрозильных комплексов железа, связанных с глутатионом и гемоглобином.
3. Динитрозильные комплексы железа, связанные с глутатионом или гемоглобином, нейтрализуют активные формы кислорода и азота.
4. Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами перехватывают свободные радикалы, образующиеся при взаимодействии гемопротеинов с модельным органическим гидропероксидом (гидропероксидом *трет*-бутила).
5. Динитрозильные комплексы железа ингибируют свободнорадикальное окисление липопротеинов низкой плотности и липосом, причем наибольшей эффективностью обладают комплексы с глутатионовыми лигандами.
6. Под действием нитроксила (HNO) происходит восстановительное нитрозилирование прооксидантных оксоферрильных и мет- форм гемового железа гемоглобина и миоглобина.

На заседании 18 сентября 2025 года диссертационный совет принял решение присудить Грачеву Дмитрию Ивановичу ученую степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.2. «Биофизика»,

участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета (дополнительно введены на разовую защиту 0 человек), проголосовали: за 17, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета МГУ.011.9,

д.ф.-м.н., проф., акад. РАН

Панченко В. Я.

Ученый секретарь

диссертационного совета МГУ.011.9,

к.ф.-м.н.

Осминкина Л. А.

18 сентября 2025 г.