

## **ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ**

**на диссертационную работу Зарипова Павла Ильдаровича «Механизмы редокс-регуляции при адаптации эритроцитов к стрессовым воздействиям», соискателя ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.2. Биофизика и 1.5.5. Физиология человека и животных.**

Павел Ильдарович Зарипов поступил в аспирантуру биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова в 2019 году, которую окончил в 2023 году. С 2020 года по настоящее время он является сотрудником лаборатории конформационного полиморфизма белков в норме и патологии ИМБ РАН, где участвует в исследованиях по адаптации эритроцитов к различным воздействиям. Павел Ильдарович Зарипов подготовил диссертацию по теме «Механизмы редокс-регуляции при адаптации эритроцитов к стрессовым воздействиям».

Изменение окислительно-восстановительного (редокс) статуса эритроцитов вносит существенный вклад в продолжительность жизни данных клеток, поскольку они неспособны синтезировать новые белки, чтобы заменить необратимо окисленные молекулы. Эритроциты, циркулируя по организму, регулярно сталкиваются со множеством стрессовых воздействий, интенсивность которых влияет на их продолжительность жизни. Особую важность играют механический стресс, который возникает при прохождении эритроцитов по сосудам, в особенности по капиллярам и синусам селезенки; метаболический стресс, возникающий при снижении или резком колебании уровня глюкозы в крови, которое возникает, в частности, при голодании и метаболических нарушениях, таких как диабет; осмотический стресс, который возникает при изменении осмолярности крови, а также стресс, возникающий при избыточном связывании с эритроцитами бета-амилоидных пептидов. Как установлено в последнее

время, эритроциты являются основным переносчиком бета-амилоида (A $\beta$ ) в кровотоке, а при старении организма человека и при болезни Альцгеймера связывание A $\beta$  с поверхностью эритроцитов возрастает. Однако связь между накоплением A $\beta$  и наблюдаемым снижением оксигенации крови у пациентов с болезнью Альцгеймера до настоящего времени так и не была установлена. Тема диссертационного исследования является очень актуальной как с теоретической, так и с практической точки зрения, поскольку рассмотрение адаптации к условиям данных стрессов в свете изменения редокс-статуса эритроцитов и редокс-зависимых модификацией позволяет раскрыть причины нарушения функциональной активности эритроцитов при данных воздействиях и предложить способы сохранения их функции.

В ходе выполнения работы Павлом Ильдаровичем были получены новые данные, касающиеся редокс-регуляции эритроцитов при адаптации к таким стрессовым воздействиям как гипоксия, механический, осмотический и метаболический стресс, а также действие бета-амилоидных пептидов. Методами Рамановской и инфракрасной спектроскопии определено влияние ковалентного связывания глутатиона (S-глутатионилирования) и нековалентного образования комплекса глутатиона с гемоглобином на свойства гемоглобина. Освоены методы проточной цитометрии, иммуноблоттинга, иммуноферментного анализа, Рамановской и инфракрасной спектроскопии, а также компьютерной обработки данных. Полученные Павлом Ильдаровичем данные позволили установить, как меняется редокс-статус эритроцитов и редокс-зависимая модификация гемоглобина – глутатионилирование при различных стрессовых воздействиях. Было обнаружено, что не только воздействия, вызывающие окислительный стресс, но и воздействия, приводящее к метаболическому стрессу, могут индуцировать глутатионилирование гемоглобина. Полученные данные имеют также важное физиологическое значение, поскольку глутатионилирование влияет на сродство к кислороду и таким

образом способно изменять транспортную функцию эритроцитов. Важным итогом работы является также выявление роста восстановленного глутатиона при гипоксии, которое как установлено в диссертационной работе происходит вследствие диссоциации глутатиона из нековалентного комплекса с гемоглобином. Павлом Ильдаровичем были охарактеризованы свойства обнаруженного комплекса гемоглобина с глутатионом и показано, что при его образовании происходит изменение гемового окружения белка. Ковалентное связывание глутатиона с гемоглобином вследствие глутатионилирования приводит к изменению во вторичной структуре белка, снижая долю альфаспиральности и повышая долю неупорядоченной структуры. Еще одним важным результатом, который в настоящее время находится в стадии публикации, является демонстрация того, что избыточное связывание бета-амилоидного пептида  $A\beta_{42}$  и его патогенной изомеризованной формы  $изоA\beta_{42}$  приводит к снижению уровня активных форм кислорода вследствие подавления NADPH оксидаз, что вызывает снижение сродства гемоглобина к кислороду. Также продемонстрировано, что, несмотря на близкие константы связывания с поверхностью,  $A\beta_{42}$  и  $изоA\beta_{42}$  вызывают различные изменения редокс-статуса эритроцитов. В частности, только для  $изоA\beta_{42}$  показано снижение уровня NO, который важен для деформабельности эритроцитов. Таким образом, накопление на поверхности эритроцитов немодифицированной и изомеризованной формы бета-амилоида будет приводить к различным изменениям свойств данных клеток. Полученные данные выявляют молекулярные механизмы редокс-регуляции функции эритроцитов при различных воздействиях и могут представлять особую значимость для разработки подходов снижения повреждения эритроцитов при различных патологиях, сопровождающихся усилением стрессовых воздействий, в частности, при анемиях и болезни Альцгеймера, а также при хранении донорской крови.

Все положения, выносимые на защиту и выводы диссертации обоснованы и достоверны. Автором установлены новые закономерности в редокс-зависимой адаптации эритроцитов к стрессовым воздействиям, выявлена новая функция гемоглобина как кислород-зависимого депо глутатиона и продемонстрирована важная роль глутатионилирования гемоглобина и образования нековалентного комплекса глутатиона с гемоглобином в изменении свойств гемоглобина и адаптации клеток к исследуемым воздействиям.

Уникальность данной работы состоит в применении биофизических подходов при исследовании физиологических процессов адаптации эритроцитов, что позволило установить связь между изменениями свойств гемоглобина, вызванных его взаимодействием с глутатионом, с изменением редокс-статуса клеток при адаптации к различным физиологическим стрессовым воздействиям.

Результаты работы изложены в 4 научных работах автора в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности.

За время выполнения работы по теме диссертации Павел Ильдарович Зарипов зарекомендовал себя как трудолюбивый и самостоятельный исследователь, который прекрасно работает в команде, способен грамотно анализировать и критично оценивать полученные данные, на основании полученных данных и данных литературы предлагать возможные объяснения наблюдаемых эффектов, находить нестандартные подходы для решения возникающих экспериментальных проблем и добиваться поставленных целей.

Диссертация «Механизмы редокс-регуляции при адаптации эритроцитов к стрессовым воздействиям» Зарипова Павла Ильдаровича соответствует требованиям, установленным Федеральным законом от

23.08.1996 № 127-ФЗ «О науке и государственной научно-технической политике» и Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изм. и доп.), к диссертационным исследованиям по всем вышеуказанным в настоящем заключении пунктам.

Таким образом, диссертация «Механизмы редокс-регуляции при адаптации эритроцитов к стрессовым воздействиям» соискателя Зарипова Павла Ильдаровича может быть рекомендована к защите в диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.2. Биофизика и 1.5.5. Физиология человека и животных.

Научный руководитель:

кандидат физико-математических наук,  
ведущий научный сотрудник лаборатории  
конформационного полиморфизма белков в норме и патологии  
«Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института  
молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук»

Петрушанко Ирина Юрьевна

*подпись*

12.03.2026

Дата подписания

Подпись сотрудника ИМБ РАН  
И.Ю. Петрушанко удостоверяю: