

Федеральное государственное учреждение  
**Федеральный исследовательский центр**  
**«Фундаментальные основы биотехнологии»**  
**Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 94-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

02.02.2017 № 12304-6224  
На № \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ:

Директор  
Федерального государственного учреждения  
Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук»  
Член-корреспондент РАН  
Попов В.О.  
\_\_\_\_\_ 2017 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на  
диссертационную работу Насыбуллиной Э.И.  
«Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин».

Диссертационная работа «Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин» выполнена на базе лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». В период подготовки диссертационной работы соискатель Насыбуллина Эльвира Ильгизовна исполняла обязанности младшего научного сотрудника.

В июне 2010 г. Насыбуллина Э.И. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств» по специальности «Биотехнология», а в ноябре 2010 г. Поступила в очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук, где проходила обучение по ноябрь 2013 г. С ноября 2013 г. работала в Институте биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в апреле 2015 г. в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук.



Тема диссертационной работы утверждена на заседании Учёного совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук (Протокол № 2 от 21.02.2013 г.)

**Научный руководитель:**

Топунов Алексей Федорович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Насыбуллиной Э.И. была представлена 26 декабря 2016 года на совместном семинаре лабораторий биохимии азотфиксации и метаболизма азота, биомедицинских исследований Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

**Актуальность темы и направленность исследования.**

При метаболических нарушениях, приводящих к гипергликемии и кетонемии, в организме человека и животных накапливаются активные карбонильные соединения и продукты глубокого гликирования аминокислот, белков и нуклеиновых кислот. Влияние этих соединений на физиологическую активность оксида азота является основной причиной нарушения вазодилатации при диабете. Важным фактором, влияющим на функционирование оксида азота в сердечно-сосудистой системе, является гемоглобин. Гемоглобин может участвовать как в образовании, так и в элиминации оксида азота, а также выступать в качестве переносчика оксида азота в форме нитрозотиолов или динитрозильных комплексов негемового железа. Особенности метаболизма эритроцитов увеличивают вероятность сочетания окислительного, нитрозативного и карбонильного стрессов. В энергетическом отношении эритроциты зависимы от потребления глюкозы, которая метаболизируется в реакциях гликолиза и пентозофосфатного шунта. Интремедиаты этих реакций триозофосфаты являются основным источником активного дикарбонильного соединения – метилглиоксаля. В результате спонтанного автоокисления гемоглобина в эритроцитах постоянно образуется супероксид-анион. Этот процесс может усиливаться в условиях гипоксии, когда возрастает дезоксигенация гемоглобина и конформационное R-T равновесие сдвигается в сторону T-формы, более склонной к автоокислению. При этом дезоксиHb, восстанавливая нитриты и нитросоединения, может продуцировать NO. Одновременное образование в эритроцитах супероксида и оксида азота, а также наличие восстановленного железа в составе гемовой группы и железа, высвободившегося при окислительной дегградации Hb, создают предпосылки для развития окислительного и нитрозативного стрессов. В этих условиях образуются нитрозотиолы и ДНКЖ, связанные с гемоглобином, и низкомолекулярные, связанные с глутатионом.

Еще одним фактором, влияющим на функции Hb, является его перераспределение из растворимого в мембраносвязанное состояние. Данные последних лет показывают, что связывание гемоглобина с компонентами мембраны имеет множественное биологическое значение. Это и регуляция метаболизма глюкозы и свойств цитоскелета в зависимости от



концентрации кислорода, а также формирование сигнала об окислительном повреждении и старении эритроцита. Повышенное количество мембраносвязанного Hb (МВHb), может быть ассоциировано со многими болезнями системы крови, вызванными не только нарушениями структуры Hb, но и нарушениями в системе антиоксидантной защиты и действием различных ксенобиотиков, окислительных и гликирующих агентов. Поэтому изучение влияния оксида азота на процессы неферментативного гликирования и функционирование Hb в условиях карбонильного стресса является актуальным.

#### **Конкретное личное участие автора в получении научных результатов.**

Представленные в диссертационной работе экспериментальные данные получены либо автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведение экспериментов, обработку, оформление и публикацию результатов. Обсуждение, обобщение и интерпретация некоторых экспериментальных данных, формулировка основных положений диссертации, составляющих её новизну и практическую значимость, формирование цели, задач, выводов и обсуждение результатов проводилось совместно с научным руководителем.

#### **Степень достоверности результатов проведенных соискателем учёной степени исследований.**

Выводы, представленные в работе, полностью подтверждены экспериментальными данными. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Использованные методики исследования и проведённые расчёты корректны.

#### **Новизна и ценность результатов, полученных лично автором в ходе научного исследования.**

Впервые показано увеличение выхода свободнорадикальных интремедиатов под действием нитрозотиолов в системе, моделирующей карбонильный стресс. В системе, содержащей метилглиоксаль и лизин, резко возросло нитрозилирование гемовой группы гемоглобина. Физиологические производные оксида азота ингибировали модификацию гемопротеидов и дипептида карнозина метилглиоксалем. Впервые был установлен факт нитрования винильной группы порфирина под действием нитрозоглутатиона и нитрита в среде, содержащей метилглиоксаль. С помощью разработанной методики определения мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах было показано, что отклонение уровня мембраносвязанного гемоглобина от нормы наблюдается в случае действия на систему крови различных ксенобиотиков, а также активных форм кислорода, азота и активных карбонильных соединений. Поэтому впервые было предложено рассматривать мембраносвязанный гемоглобин в качестве дополнительного критерия для оценки функционального состояния эритроцитов при хронической эндогенной интоксикации.

#### **Практическая значимость диссертации и использование полученных результатов.**

Уровень мембраносвязанного гемоглобина позволяет получить информацию о состоянии эритроцита. С помощью этого критерия можно оценить степень окислительного повреждения эритроцита и его реактивность. В настоящее время



рассматривается возможность использования показателя реактивности эритроцитов в качестве индикатора стрессового состояния или адаптивной реакции организма. По уровню мембраносвязанного гемоглобина можно производить оценку реактивности эритроцитов. Также мы предлагаем использовать мембраносвязанный гемоглобин в клинической диагностике в качестве дополнительного биохимического показателя выраженности интоксикационного синдрома. Разработанная в рамках данной работы методика спектрофотометрической оценки доли мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах может быть полезна для этих целей.

Показанное в работе гомеостазирующее влияние физиологических доз ДНКЖ с глутатионовыми лигандами на эритроциты может служить предпосылкой для применения этих метаболитов оксида азота в качестве стабилизаторов эритроцитов при проведении фотодинамической терапии и при консервировании донорской крови. Применение этих комплексов может изменить характеристики зависимости «доза-ответ» эритроцитов, а также увеличить зону стабилизации.

На основе разработанной пилотной версии компьютерной экспертной системы может быть создан самостоятельный диагностический комплекс, который позволит повысить оперативность и точность постановки диагноза в сфере заболеваний крови.

**Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите.**

Представленная Насыбуллиной Эльвирой Ильгизовной диссертационная работа посвящена действию активных форм азота и карбонильных соединений на гемоглобин. Работа соответствует специальности 03.01.04 Биохимия, по которой рекомендуется к защите.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем учёной степени.**

По теме диссертации опубликовано 4 статьи, отражающие основной объём диссертационной работы, в изданиях, удовлетворяющих требованиям п. 13 «Положения о присуждении учёных степеней» утверждённого Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, и перечню рецензируемых журналов ВАК РФ:

**Список публикаций:**

1. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., **Nasybullina E.I.**, Gubkina S.A., Topunov A.F. Interaction of S-nitrosoglutathione with methemoglobin under conditions of modeling carbonyl stress. // Hemoglobin. 2013. V. 37. No. 3. P. 205-218.
2. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., **Nasybullina E.I.**, Topunov A.F. Formation of nitri- and nitrosylhemoglobin in systems modeling the Maillard reaction. // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2014. V. 52. No. 1. P. 161-168.
3. **Насыбуллина Э.И.**, Никитаев В.Г., Проничев А.И., Блиндарь В.Н., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Экспертная система диагностики гемоглобинопатий с использованием данных о состоянии крови, эритроцитов и гемоглобина. // Краткие сообщения по физике. 2015. Т. 42. № 7. С. 22-27.
4. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., **Nasybullina E.I.**, Gromov S.V., Novikov A.A., Topunov A.F. New dinitrosyl iron complexes bound with physiologically active



dipeptide carnosine. // Journal of Biological Inorganic Chemistry. 2017. V. 22. No. 1. P. 153–160.


Результаты работы также были опубликованы в материалах 7 конференций и представлены на 4 международных и 3 всероссийских конференциях.

Считать диссертационную работу Насыбуллиной Эльвиры Ильгизовны «Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует критериям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утверждённом Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, и профилю диссертационного совета Д 002.247.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Рекомендовать диссертационному совету Д 002.247.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» принять к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия диссертационную работу Насыбуллиной Эльвиры Ильгизовны «Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин» (научный руководитель д.б.н. Топунов А.Ф.).

Заключение принято на совместном семинаре лабораторий биохимии азотфиксации и метаболизма азота и биомедицинских исследований Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук путем открытого голосования. Присутствовало на семинаре – 18 человек. Результаты голосования: «за»- 18, «против» - нет, «воздержалось» - нет. Протокол № 8 от «26» декабря 2016 г.

Председатель  
совместного семинара лабораторий  
заведующий лабораторией  
биомедицинских исследований  
д.б.н., профессор

 /Шишкин С.С./

Секретарь  
совместного семинара лабораторий  
старший научный сотрудник лаборатории  
биохимии азотфиксации и метаболизма азота  
к.б.н.

 /Космачевская О.В./