

## ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего кафедрой Биохимии имени Р.И. Лифшица Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, доцента Сеницкого Антона Ивановича по диссертации Звягиной Валентины Ивановны «Роль карнитина в функционировании митохондрий в условиях экспериментального дефицита NO (II) и гипергомоцистеинемии», представленной к защите в диссертационный совет 21.2.060.02 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

### Актуальность исследования

L-карнитин наиболее известен как витаминоподобное соединение, играющее важную роль переносчика жирных кислот из цитоплазмы в митохондрии для поддержания процессов  $\beta$  - окисления. В меньшей степени описаны эффекты L-карнитина, связанные с удалением потенциально токсичных метаболитов из матрикса митохондрий, накопление которых может сопровождаться развитием митохондриальной дисфункции. Продемонстрирована и связь между NO-опосредованной передачей клеточных сигналов и изменением активности ферментов, вовлеченных в регуляцию карнитинового гомеостаза в клетках эндотелия. Эти биологические свойства L-карнитина до настоящего времени остаются малоизученными, и представляются важными для дальнейших исследований возможностей L-карнитина и его производных как биомаркеров и потенциальных терапевтических агентов. Таким образом, актуальность изучения состояния и механизмов изменения митохондриальной активности, а также оценка роли карнитина в различных тканях в условиях экспериментально измененной генерации оксида азота и повышенного содержания гомоцистеина,

избранной в качестве цели диссертационного исследования Звягиной В.И., сомнений не вызывает.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Следует отметить значительную степень научной новизны диссертационного исследования Звягиной В.И., в котором был получен и представлен существенный спектр научных результатов. Впервые выявлено снижение содержания общего, свободного и связанного карнитина при тяжелой форме гипергомоцистеинемии в цитоплазматической и митохондриальной фракции исследуемых органов крыс. Рассмотрен возможный механизм участия карнитина в снижении степени выраженности гипергомоцистеинемии, вызванной избыточным потреблением метионина, через формирование короткоцепочечных ацилов карнитина с продуктами метаболизма метионина.

В диссертационном исследовании Звягиной В.И. впервые продемонстрировано, что карнитина хлорид способствует повышению уровня лактата внутри митохондрий сердца, печени и головки эпидидимиса на фоне экспериментального ингибирования NO-синтаз и аналогичный эффект в условиях окислительного стресса, вызванного избыточным поступлением метионина в головке придатка яичка.

Представляется перспективным для дальнейшего изучения обнаруженный феномен повышения уровней метаболитов оксида азота в исследуемых фракциях и органах при дополнительном введении карнитина хлорида. Между уровнями общего карнитина и метаболитов NO в митохондриях сердца, печени и головки эпидидимиса обнаружена сильная положительная связь, что дополняет существующие представления о связи между балансом карнитина и NO-опосредованной регуляцией функций митохондрий.

## **Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Представленные в диссертации Звягиной В.И. научные положения, выводы и рекомендации полностью отвечают цели и задачам исследования, они представляются обоснованными, что обусловлено, в том числе корректным методологическим уровнем выполнения исследования. Для решения поставленных задач автором применен комплекс адекватных и верифицированных моделей, с использованием в качестве объекта исследования клеток цитоплазмы и выделенной фракции митохондрий различных тканей. Следует отметить, что во всех случаях автором приводятся и обсуждаются полученные в ходе исследования результаты.

Для получения результатов в исследовании использовались современные и классические биохимические методы анализа. Достоверность данных и корректность обоснования научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается использованием адекватных методов статистического анализа с использованием лицензированного программного обеспечения (StatSoft Statistica 10.0, «GraphPad Prism 9.0»).

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации логически вытекают из полученных автором результатов исследования. Данные работы были неоднократно апробированы в докладах и публикациях профильных журналов и конференций международного и национального уровня.

## **Значимость результатов, полученных автором, для науки и практики**

Результаты диссертационной работы Звягиной В.И. имеют высокий уровень научной ценности и практической значимости. Так, с точки зрения фундаментальной науки, полученные в исследовании данные, существенно расширяют представления о биологических функциях карнитина, механизмах реагирования митохондрий на стресс, в том числе окислительный, и путях адаптации к нему, что имеет практическое медицинское значение, открывая

новые возможности целенаправленного использования карнитина в фармакотерапии заболеваний.

Научная и практическая значимость исследования подчеркивается внедрением его результатов в работу Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Городская клиническая больница № 11», Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областная клиническая больница», а также в производство ЗАО «ЭКОлаб», а также их использованием в учебном процессе на кафедре Биохимии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

### Содержание работы, ее завершенность и оформление

Диссертационная работа Звягиной В.И. имеет традиционную структуру, соответствующую требованиям действующих нормативных документов. Диссертация включает следующие разделы: введение, 3 главы основной части (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение), заключение, выводы и практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы (364 источника, в том числе 330 зарубежных). Общий объем рукописи составляет 270 страниц.

Введение диссертации содержит обоснование актуальности темы исследования с характеристикой степени ее разработанности, формулировку цели и задач исследования, описание научной новизны, теоретической и практической значимости работы. Здесь же формулируются основные положения, выносимые на защиту, приводятся сведения о внедрении результатов работы и их апробации, личном вкладе соискателя.

Глава 1 - Обзор литературы - подробно проанализированы возможные пути ответа митохондрий на возникающий в организме стресс, в первую очередь, окислительный, подробно описано формирование АФК, в том числе NO и их роль в функционировании митохондрий. Автор детально проработал имеющиеся данные о роли карнитина для организма животных и человека. Следует отметить, анализ значительного количества актуальных научных источников и рациональное использование иллюстративного материала.

В главе 2 - Материалы и методы исследования - приводится описание объекта исследования и сформированных для решения задач экспериментальных моделей. Подробно описываются методы получения биологических материалов и далее дается детальная характеристика используемых биохимических методов, что делает работу особо ценной с точки зрения воспроизводимости методов по схожей тематике. Также в главе 2 приводится описание методов статистической обработки данных.

В главе 3 изложены собственные результаты и их обсуждение. Структура главы составлена в полном соответствии с порядком постановки и формулировки задач. Раздел 3.1 посвящен изучению функционирования митохондрий при воздействии модуляторов синтеза оксида азота, раздел 3.2. описывает функционирование митохондрий под влиянием тяжелой формы гипергомоцистеинемии. В разделе 3.3. приведена сравнительная оценка активности митохондрий в условиях исследуемых экспериментальных моделей и в разделе 3.4. описываются обнаруженные взаимосвязи между уровнем карнитина и метаболитами NO в изучаемых тканях, а также содержанием гомоцистеина в сыворотке крови и карнитина при изученных патологических состояниях. По мере изложения материала автор проводит их обсуждение, сопоставляя с современными научными представлениями. Следует отметить значительное количество и разнообразие графического и табличного материала, при этом все таблицы и рисунки содержат данные статистического анализа, позволяющие получить представление о степени статистической значимости обнаруженных изменений.

Заключение содержит изложение основных итогов выполненного исследования и завершается описанием перспектив исследования и дальнейшей разработки темы. Выводы соответствуют задачам и логически вытекают из полученных результатов. Практические рекомендации отличаются конкретикой и содержательностью. В целом, представленная работа представляет собой завершённое научно-квалифицированное исследование, заслуживающие высокой оценки.

При ознакомлении с текстом диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1. В разделе 2.2, содержащим описание экспериментальных моделей, не обозначен растворитель, использованный для введения L-NAME в экспериментальных группах 1 и 2. Хотя, для групп 4 и 5 растворитель указан. Сам ингибитор использовался в виде гидрохлорида, и, очевидно, как и в группах 4 и 5 растворялся перед введением на физ. растворе NaCl? Получала ли группа 3 в таком случае внутрибрюшинные инъекции физ. раствора NaCl?

2. Цитоплазматическая фракция, использованная для определения исследуемых аналитов, получалась в ходе центрифугирования гомогенатов, приготовленных на среде выделения на основе сахарозы (0,25 М). Не вызвало ли наличие сахарозы в достаточно высокой концентрации затруднений на дальнейших (аналитических) этапах исследования?

3. Как интерпретировать данные об уровнях лактата и активности ЛДГ в митохондриях? Можно ли считать это митохондриальным изоферментом ЛДГ?

4. Раздел 3.1.5. Как объяснить снижение содержания карнитина в митохондриях миокарда и эпидидимиса при введении экзогенного карнитина?

5. Можно ли, опираясь на результаты проведенного исследования, объяснить органо – и тканеспецифичность эффектов экзогенного карнитина при моделировании гипергомоцистеинемии?

### Заключение

Диссертация «Роль карнитина в функционировании митохондрий в условиях экспериментального дефицита NO (II) и гипергомоцистеинемии» Звягиной Валентины Ивановны, представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, касающееся выявления существенной роли нарушений обмена карнитина при состояниях,

сопровождающихся дефицитом генерации NO (II) и гипергомоцистеинемией, что имеет важное значение для раскрытия молекулярных механизмов изученной экспериментальной патологии и разработки эффективных методов коррекции этих состояний. Диссертация соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор, Звягина Валентина Ивановна, заслуживает присуждение ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

**Официальный оппонент:**

заведующий кафедрой Биохимии имени Р.И. Лифшица,  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Южно-Уральский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук (03.01.04. Биохимия),  
доцент

07.02.2024



Синицкий А.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Адрес: 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского д. 64  
Телефон: +7(351)232-74-76  
E-mail: kanc@chelma.ru, sinitskiyai@yandex.ru