

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Томский национальный  
исследовательский медицинский  
центр Российской академии наук»,  
академик РАН, д.б.н., профессор



В.А. Степанов

«22 февраля» 2024 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертации Бриллиант Светланы Александровны на тему: «Роль неоднородности изоформ гемоглобина в адаптации организма к экстремальным воздействиям», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

#### Актуальность темы исследования

Гемоглобин представляет собой сложный белок класса гемопротейнов, способный обратимо связывать кислород и углекислый газ, обеспечивая тканевое дыхание. В настоящее время он является одним из наиболее изученных белков с точки зрения состава, структуры и функций. Тем не менее, несмотря на значительное количество работ, посвящённых данному протеину, остаётся открытым ряд вопросов, в частности, об изменениях в различных формах гемоглобина при действии на организм экстремальных факторов различной физической природы.

Известно, что неоднородность гемоглобина является давно общепризнанным фактом, а различия в соотношении между его изоформами отмечены в многочисленных исследованиях. Также отмечается изменение

средства гемоглобина к кислороду у разных видов животных, обитающих в условиях высокогорья, что имеет несомненный адаптационный признак, и, как правило, данная трансформация обусловлена мутациями, затрагивающими строение цепей гемоглобина. Однако свойства отдельных изоформ, формирование гемоглобинового профиля в процессе онтогенеза, его изменения в экстремальных условиях и при патологических процессах, а также патофизиологические механизмы, регулирующие соотношение между изоформами гемоглобина, как периферической крови, так и костного мозга, остаются до конца не изучены.

Таким образом, проведенные Бриллиант С.А. в рамках диссертационной работы исследования являются своевременными и касаются решения актуальных задач для патологической физиологии.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В диссертационной работе С.А. Бриллиант впервые показано, что неоднородность изоформ гемоглобина костного мозга и периферической крови является важным компонентом адаптивных реакций организма. Выделены наиболее значимые для адаптации изоформы гемоглобина костного мозга и цельной крови, а также изучены их свойства. Кроме того, впервые выявлено наличие 6 фракций эритроцитов у крыс, различающихся по соотношению между изоформами гемоглобина и по молекулярному весу при действии на организм экстремальных факторов. Впервые обнаружено, что в пяти из шести фракций эритроцитов содержатся нормальные типы гемоглобинов с молекулярной массой 64-68 кДа, которые составляют 65% от всех гемоглобинов, 24% приходится на лёгкие (менее 64 кДа) и 11% - на тяжёлые (более 68 кДа) изоформы гемоглобина (в физиологических условиях и при действии экстремальных факторов). Впервые установлено, что

изоформы гемоглобина отличаются по характеристикам как гема, так и глобина, что в итоге отражается на их лиганд связывающей способности.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов по диссертации**

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертационной работы С.А. Бриллиант подтверждается большим объёмом проанализированной и обобщенной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, корректным использованием современных высокотехнологичных методов исследования, адекватных методов статистической обработки полученных результатов.

### **Соответствие содержания диссертации паспорту специальности**

Указанная область научных исследований соответствует паспорту специальности 3.3.3. Патологическая физиология, а именно пунктам: 1. Исследование особенностей этиологических факторов, вызывающих развитие повреждения, и характера их воздействия на уровне клеток, органов и систем организма; 3. Изучение механизмов системных изменений при локальном повреждении и закономерностей генерализации патологических процессов; 8. Изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов**

#### **Научная значимость результатов**

Данные о наличии шести фракций эритроцитов у крыс, отличающихся соотношением между изоформами гемоглобина и молекулярной массой, дополняют фундаментальные представления о гетерогенной системе гемоглобина. Результаты изучения гетерогенности гемоглобинов животных, а

также их распределения в разных фракциях эритроцитов, обеспечивают адаптацию организма к резким колебаниям парциального давления кислорода, однако, если это действие длительное, то оно проявляется в перестройке эритропоэза и лейкопоэза.

Показана информативность использования методов Рамановской спектроскопии и электрофореза, позволяющих выявить различия изоформ гемоглобинов и охарактеризовать их свойства.

### **Практическая значимость**

Результаты исследования носят фундаментальный характер и расширяют представления о различиях изоформ гемоглобина и фракций эритроцитов. Практическая значимость работы обусловлена новыми данными об изменениях и различиях структурных характеристик, электрофоретической подвижности и молекулярного веса изоформ гемоглобина при действии на организм экстремальных факторов. Неоднородность изоформ гемоглобина обуславливает и гетерогенность фракций эритроцитов. Полученные данные могут быть использованы в образовательном процессе для подготовки специалистов медико-биологического профиля.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа С.А. Бриллиант изложена на 164 страницах машинописного текста и состоит из оглавления, введения, основной части (обзора литературы, материалов и методов исследования, 4 глав, отражающих результаты собственных исследований и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 203 источника, в том числе 75 отечественных и 128 зарубежных публикаций. Работа проиллюстрирована 49 таблицами и 8 рисунками.

Во введении отражена актуальность темы диссертационной работы, описаны цели и задачи исследования, выделены научная новизна и

практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту.

В «обзоре литературы» приведены данные о физиологической и патофизиологической роли неоднородности изоформ гемоглобина у разных видов. На основании данных литературы автор приходит к обоснованному заключению, что, несмотря на огромное количество информации о разнообразии гемоглобинов и их свойствах, до сих пор остаются нерешенными вопросы, которые требуют дополнительных исследований.

Из обзора литературы логично вытекают цели и задачи исследования.

В главе «Материал и методы» представлена подробная характеристика методов исследования, свидетельствующая о высоком методическом уровне данной работы. Экспериментальные модели и методы исследования адекватны поставленным задачам. Большой объем экспериментального материала и корректные методы статистической обработки позволяют объективно оценить достоверность полученных данных.

Следующие четыре главы посвящены изложению результатов собственных исследований и их обсуждению. Этот раздел диссертационной работы логично начинается с описания изоформ гемоглобина периферической крови и костного мозга, их перераспределения в фракциях эритроцитов. Далее автор проводит оценку изменения структурных характеристик изоформ гемоглобина в эритроцитах у интактной группы животных (в физиологических условиях) и при действии на организм экстремальных факторов (острая массивная кровопотеря, острое асептическое воспаление, иммобилизационный стресс).

В разделе «Заключение» автор обобщает полученные результаты и приходит к обоснованному заключению о том, что у животных в периферической крови и в костном мозге выявляются 6 изоформ гемоглобина, различающиеся по электрофоретической подвижности, по молекулярной массе, кислото- и щелоче- устойчивости, по конформационным

характеристикам и кислород связывающей способности. Основная доля гемоглобина (65%) приходится на изоформы с молекулярным весом 64-68 кДа (показатели, наиболее часто приводимые в литературе), но помимо этого в крови циркулируют ещё и более лёгкие (с молекулярной массой менее 64 кДа - 24%), и более тяжёлые (с молекулярной массой более 68 кДа – 11%) изоформы. Автором показано, что методом фракционного центрифугирования можно выделить 6 фракций эритроцитов, которые различаются по содержанию и соотношению отдельных изоформ гемоглобина в клетке. В пяти из них содержится хотя бы одна с молекулярной массой 64 – 68 кДа. Установлено, что в первой и второй фракциях эритроцитов смесь гемоглобинов представлена одной из основных изоформ и тяжелой изоформой, в третьей и четвертой – только основными (нормальными) гемоглобинами в различных сочетаниях, в пятой фракции эритроцитов – смесью основной и лёгкой изоформ, а в 6-й – только лёгкими изоформами. К тому же, в отдельном эритроците всегда только две изоформы гемоглобина, из которых одна по молекулярной массе тяжелее другой. Наличие же двух разных изоформ гемоглобинов в одной клетке существенно сказывается на суммарных структурных характеристиках смеси.

Результаты работы отражены в 5 выводах.

#### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертационной работы Светланы Александровны Бриллиант содержит исчерпывающую и хорошо иллюстрированную информацию. Автореферат отражает основное содержание диссертации, полностью соответствует ее разделам и положениям.

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 37 научных работ, из них 12 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 25 докладов, представленных на российских и международных конференциях.

## **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты диссертационной работы Бриллиант Светланы Александровны, свидетельствуют о том, что изменения гемоглобинового профиля костного мозга и периферической крови при экстремальных воздействиях могут являться показателями эффективности эритропоэза при различных гематологических заболеваниях (анемиях, талассемиях, гемобластозах и прочих).

### **Замечания к работе**

В диссертации и автореферате имеются опечатки, стилистические погрешности.

При прочтении диссертации возникли следующие замечания и дискуссионные вопросы.

1. Оформление диссертации не соответствует принятым правилам. Отсутствуют традиционные обобщающие разделы «Обзор литературы», «Результаты собственных наблюдений» и «Обсуждение полученных результатов», что затрудняет восприятие и анализ результатов диссертационной работы. В оглавлении последнее слово заголовка не соединено отточием с соответствующим ему номером страницы в правом столбце оглавления (по ГОСТ Р 7.011-2011). Общепринятое наименование 2-ой главы «Материал и методы исследования» в данной работе формулируется как «Методические вопросы исследования».

В таблицах не соблюдено одинаковое количество десятичных знаков для числовых величин, перенос цифр в пределах одной величины на следующую строку значительно затрудняет восприятие цифрового материала. Библиографические ссылки оформлены не единообразно.

2. Представленные выводы не дают четкого представления о различиях в изоформах гемоглобина и фракциях эритроцитов в зависимости от типа

экстремального воздействия, либо в условиях оптимальной жизнедеятельности.

3. В автореферате некорректно описаны методы подсчета миелограмм и общего количества миелокариоцитов.

В плане дискуссии хотелось бы получить ответ на следующий вопрос:

1. Как Вы считаете, после окончания действия того или иного экстремального фактора происходит ли обратное изменение соотношения изоформ гемоглобина в периферической крови и в костном мозге?

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Бриллиант Светланы Александровны на тему: «Роль неоднородности изоформ гемоглобина в адаптации организма к экстремальным воздействиям», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи, а именно, дана характеристика изоформ гемоглобина костного мозга и периферической крови, а также отмечены различия популяций эритроцитов и перераспределение в них разных изоформ гемоглобина при экстремальных воздействиях, описаны структурно-функциональные свойства отдельных изоформ гемоглобина.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, практической значимости полученных результатов, публикациям представленная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 26.10.2023 г. № 1786), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Бриллиант Светлана Александровна заслуживает присуждения



учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3.  
Патологическая физиология.

Отзыв обсуждён на заседании лаборатории патофизиологии и  
экспериментальной терапии НИИ фармакологии и регенеративной медицины  
им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, протокол заседания № 1 от 14 февраля  
2024 г.

Старший научный сотрудник  
лаборатории патофизиологии и  
экспериментальной терапии  
Научно-исследовательского института  
фармакологии и регенеративной  
медицины имени Е.Д. Гольдберга  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Томский национальный исследовательский  
медицинский центр Российской академии наук»,


доктор медицинских наук

Мирошниченко Лариса Аркадьевна

На обработку указанных персональных данных и включение их в  
аттестационное дело диссертанта согласна Мирошниченко Л.А.

Подпись Л.А. Мирошниченко заверяю  
Ученый секретарь Томского НИМЦ,  
к.б.н.



 Хитринская И.Ю.

«22» февраля 2024 г.

Адрес: 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10;  
Телефон: 8(3822)51-22-28, e-mail: center@tnimc.ru

Отзыв ведущей организации – ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» – поступил 12.03.2024 года

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01

Ю.А. Журавлева

С отзывом ведущей организации ознакомлена 12.03.2024 года

Соискатель

С.А. Бриллиант

