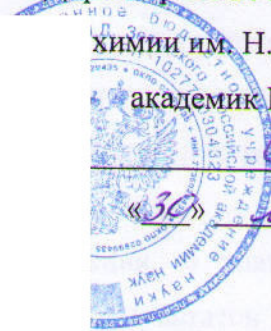


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБУН Институт органической
химии им. Н.Д. Зелинского РАН
академик РАН, профессор

 М.П. Егоров

 2015 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

на диссертационную работу Евсеева Анатолия Константиновича «Электрохимические технологии для диагностики и коррекции нарушений гомеостаза», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 05.17.03 – Технология электрохимических процессов и защита от коррозии

Диссертационная работа А. К. Евсеева, выполнена на стыке электрохимии и медицины и в её идейной основе лежит уже известное представление о том, что функционирование жизненно важных систем организма человека реализуется через электрохимические механизмы. Как следствие основные усилия автор направил на разработку ряда электрохимических тестов и установление их связи с функциональным состоянием пациентов при заболеваниях различной этиологии. Прежде всего, речь идет о диагностических возможностях потенциалов электрода, измеряемых при разомкнутой цепи (ПРЦ), а также об использовании электрохимических процессов, протекающих на границе раздела фаз биологический материал/электрод для лечения ряда патологических состояний. Автор не случайно сосредоточил внимание на пациентах с нарушениями окислительно-восстановительных систем организма, резонно полагая, что с одной стороны следствием таких нарушений станут сдвиги окислительно-восстановительных равновесий в биологических средах организма и с другой – что именно электрохимические измерения позволят надежно зафиксировать такие сдвиги. А. К. Евсеев специально подчеркивает, что электрохимические методы являются селективными, а технологии гибкими и не требующими высоких капитальных затрат.

Таким образом, актуальность постановки настоящего исследования не вызывает сомнений и определяются его основными задачами. Это разработка и применение

диагностических и прогностических электрохимических технологий для пациентов с гипоксическими состояниями; использование в этих целях мониторинга потенциала ПРЦ, с параллельным электрохимическим определением уровня антиоксидантов в плазме крови, а также разработка электрохимических методов коррекции гомеостаза, через электросинтез окисляющих растворов, или же путем электрохимической «холодной» остановки внутрисосудистых кровотечений.

Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав (литературный обзор, методики исследования и 4 главы с обсуждением результатов исследований), выводов, списка цитированной литературы, (370 ссылок) и приложения. Объем диссертации составил 279 страниц, включая 130 рисунков и 42 таблицы.

Во введении автором обоснованы актуальность диссертационной работы, выбор объектов, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость полученных результатов.

Первая глава (стр. 16-75) посвящена обзору литературы и включает 4 раздела с критическим анализом публикации по теме диссертационной работы. Особо отметим детальный анализ способов измерения редокс потенциала электрода в биологических средах и его связи с различными функциональными и биохимическими параметрами организма. Такой анализ стал основой для создания метода измерения потенциала платинового электрода в биологических средах отвечающего требованиям надежности и воспроизводимости. Особое место в этой главе занимают проблемы измерения антиоксидантной активности, электрохимический синтез растворов, содержащих в своем составе доноры «активного кислорода», а также известные подходы к лечению кровотечений с помощью электрохимической коагуляции крови.

Во второй главе (стр. 76-93) детально описаны использованные автором экспериментальные установки и методы исследования. Последние включают как электросинтетические, так и другие электро- и физико-химические методы, а также ряд представленных в работе биологических методик. Следует особо подчеркнуть, роль методов статистического анализа. Это характерная черта общего подхода А. К. Евсева к анализу полученных результатов. Забегая вперед, отметим, что именно статистическая обработка данных, использующая программное обеспечение, позволила не только достоверно оценить предложенные автором диагностические и прогностические критерии состояния пациента, но и прогнозировать исход заболевания.

Одно из центральных мест в диссертации занимает третья глава (стр. 94-162), а наиболее ярким описанным в ней достижением А. К. Евсева стала разработка методики получения воспроизводимых потенциалов ПРЦ в биологических средах. Без создания

этой методики по существу было бы невозможно получить основные результаты работы.

Анализ данных по влиянию на потенциал ПРЦ адсорбированных на платине природных соединений, а также поверхностных оксидов платины (переменный состав которых определяет их взаимодействие с кислородом), позволил А. К. Евсееву создать электрохимическую, защищенную патентом, методику предварительной обработки платинового электрода. Эта методика позволила стандартизовать подготовку платинового электрода для измерений потенциала ПРЦ в различных средах и, что существенно, заметно повысить воспроизводимость измерений и в водных и в биологических средах.

Измерения потенциала ПРЦ платинового электрода по методике А. К. Евсева в модельных растворах, содержащих компоненты биологических сред (белки, прооксиданты, антиоксиданты), позволили заключить, что при контакте платины с биологическими средами основным потенциалопределяющим фактором является соотношение про- и антиоксидантов.

Основное содержание третьей главы диссертации составляют результаты исследования диагностических возможностей предложенного метода измерения ПРЦ платинового электрода в плазме и сыворотки крови у пациентов с различными патологическими состояниями. Так:

- установлено, что величины потенциалов ПРЦ различных групп пациентов, (пациенты с острой церебральной патологией, острыми эндотоксикозами, трансплантированными органами) значительно отличаются от значений потенциалов ПРЦ в тех же средах у практически здоровых людей.
- обнаружена взаимосвязь изменения величин потенциалов ПРЦ с клинической картиной лечения пациента. Так, анализ значительного массива данных (около 2000 измерений у пациентов) позволил предложить диагностические и прогностические критерии оценки состояния пациента на основе абсолютных величин сдвига за одни или несколько суток мониторинга.
- особого внимания заслуживают новые перспективные направления измерения потенциала ПРЦ непосредственно в тканях, а именно, измерение потенциала ПРЦ стенок желудка и кишечника с помощью миниатюрного датчика.

В целом в третьей главе успешно реализован новый подход к интерпретации изменений потенциала ПРЦ платинового электрода в плазме и сыворотке крови. В результате автором предложены критерии диагностики ряда патологических состояний и спрогнозирован исход заболевания травмобезопасным и простым методом.

Четвертая глава диссертации (стр. 163-191) связана с разработкой новых (прямого и непрямого) методов электрохимического определения антиоксидантной активности

биологических сред. Прямой метод основан на данных ЦВА с использованием стеклоглерода, модифицированного гексацианоферратами кобальта или никеля, как рабочего электрода. Проведенное тестирование показало, что измеренные этим методом концентрации антиоксидантов в плазме крови практически здоровых добровольцев, находились в том же диапазоне, что и физиологические концентрации аскорбиновой кислоты в плазме крови здоровых людей.

Второй, предложенный автором (непрямой) метод, основан на взаимодействии антиоксидантов плазмы крови с водным раствором п-бензохинона как медиатора, с последующим электрохимическим определением концентрации неизрасходованного п-бензохинона. Найдено, что измерение концентрации антиоксидантов указанным методом хорошо согласуется с данными, общепринятого метода спектрофотометрии. Таким образом, простота и надежность - основные преимущества методов определения антиоксидантной активности биосред, разработанных А. К. Евсеевым перед традиционными методами. Наконец, совместный мониторинг и анализ величин потенциалов ПРЦ и антиоксидантной активности у пациентов с трансплантированными органами дали важную для клиницистов информацию, позволяющую корректировать тактику лечения пациента.

В пятой главе (стр. 192-220) рассмотрен электросинтез окисляющих растворов нового поколения на основе сульфатно-хлоридных, карбонатных и карбонатно-хлоридных водных сред. Установлено, что добавки хлорида (не более 1,5 мМ) в 0,14 М водный раствор сульфата натрия позволили реализовать электросинтез растворов с величиной окислительно-восстановительного потенциала более 1000 мВ, тогда как в отсутствие добавок хлорида он не превышал 450 мВ. Таким образом, новизна нового метода электросинтеза доноров активного кислорода состоит в использовании микродобавок хлорида, содержание которого на порядок ниже величины ПДК для питьевой воды. Следует подчеркнуть, что использование в качестве исходных растворов щелочных сульфатно-хлоридных водных электролитов (рН 13,0) позволило автору эффективно (без обычно необходимой корректировки рН) решить проблему электросинтеза целевых растворов с физиологическим диапазоном величин рН 7,2-7,4. Несомненной находкой диссертанта является значительное упрощение подхода к получению окисляющего раствора с заданным значением рН за счет использования специально разработанных трехмерных диаграмм: плотность тока – скорость протока электролита – рН.

В целом автором разработана гибкая одностадийная технология электросинтеза нейтральных окисляющих растворов медицинского назначения. В зависимости от условий электролиза стало возможным синтезировать растворы с потенциалом ПРЦ 400 мВ

(используемые в качестве антисептика) которые не оказывают травмирующего действия на форменные элементы крови и обладают при этом высокой бактерицидной активностью по отношению к патогенной микрофлоре.

В шестой главе диссертации (стр. 221-234) представлен разработанный автором и испытанный на животных метод электрохимической коагуляции крови для остановки кровотечений. В этих целях обычно используемые в клинике электроды на основе эндоваскулярных проводников, были модифицированы автором путем электроосаждения на рабочую часть благородных металлов (золото, палладий, рутений или родий). Данные поляризационных измерений с микрофотографиями поверхности поляризованного электрода после контакта с биологической средой (цельная кровь, плазма крови), позволили заключить, что наложение анодного потенциала активирует процесс коагуляции, причем наилучший результат достигнут в случае родиевых покрытий. Следует подчеркнуть, что применение электродов с коррозионностойким покрытием исключает попадание в кровоток ионов тяжелых металлов, что обычно происходит при использовании электродов из нержавеющей стали в аналогичных процедурах.

К достижениям автора следует отнести предложенную им доступную и понятную форму графической интерпретации экспериментальных данных в виде трехмерной зависимости: объем сгустка – сила тока – время воздействия. Использование таких диаграмм обеспечивает гибкий подбор параметров проведения электрохимической коагуляции в зависимости от диаметра кровеносного сосуда. Украшением этой части работы являются исследования эффективности разработанного метода остановки кровотечений при эксперименте в реальных условиях.

Анализируя итоги проведенных исследований можно заключить, что их:

- **научная новизна заключается:** а) в установлении связи между соотношением про- и антиоксидантных систем организма и сдвигом потенциала платинового электрода ПРЦ в плазме и сыворотке крови; б) в разработке ряда качественных и количественных характеристик предложенных методов диагностики и прогнозирование на этой основе развитие осложнений у пациента; в) в обнаружении волнообразных участков на зависимостях потенциал ПРЦ– время у пациентов с воспалительными процессами и связь этого эффекта с продуцированием активных форм кислорода при активации нейтрофилов; г) в эффекте усиления окислительной способности электрогенерированных растворов, с активными формами кислорода при введении малых $C \leq 0,15$ мМ добавок хлорида; д) в развитии представлений об электрохимической модели процессов свертывания крови, протекающих на положительно заряженной поверхности электрода.
- **практическая значимость заключается:** а) в разработке экспрессных, простых и

неинвазивных, электрохимических методов диагностики состояния окислительно-восстановительной системы организма; б) в прогностической ценности предложенных критериев оценки тяжести состояния, риска развития осложнений и исхода заболеваний у пациентов с трансплантированными органами; в) в оценке эффективности проведения активных методов лечения (процедуры гипербарической оксигенации, методы эфферентной терапии и др.); г) в разработке методов электрохимического анализа антиоксидантной активности биологических сред, имеющих ряд преимуществ перед широко используемым спектрофотометрическим методом; д) в использовании комплексного анализа про- и антиоксидантов в биологических средах для оценки состояния окислительно-восстановительного баланса организма в целом и его антиоксидантной составляющей в частности; е) в разработке способа электросинтеза растворов, содержащих активные формы кислорода и обладающих бактерицидной активностью при сохранении высокой гемосовместимости синтезированных растворов; ж) в реализации эксперимента *in vivo* для остановки кровотечений путем электрохимической коагуляции крови, используя модифицированные родием ангиографические электроды что позволило избежать анодного растворения подложки из нержавеющей стали.

Диссертацию завершают 13 выводов, хорошо отражающих ее теоретическое и прикладное значение. Автореферат диссертации полностью отражает ее основное содержание, научную новизну, практическую значимость и выводы.

В целом работа выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне, при этом большой объем ценной информации получен с широким использованием как физико-химических, так и биологических методов анализа.

Представленные автором разработки и подходы имеют несомненный научный и практический интерес в области новых медицинских технологий и могут быть использованы в ряде организаций, занимающихся как научно-исследовательскими, так и практически разработками в области медицинской техники, например, в НИИ СП им. Н. В. Склифосовского, МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Институте хирургии им. А. В. Вишневского, НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко, НИИ ФХМ, ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В. И. Шумакова, ГНЦ «НИОПИК» и др.

В целом высоко оценивая значимость исследования, проведенного А. К. Евсеевым следует остановиться и на его некоторых недостатках.

1. Несмотря на то, что текст диссертации достаточно убедительно отражает результативность проведенного исследования, именно с текстом связаны основные замечания. Так:

1а. Само название диссертации содержит не тривиальное для электрохимических работ понятие «**коррекция нарушений гомеостаза**», поэтому в вводной части уже на первых строках следовало бы дать четкое определение **гомеостаза** и возможных причин его нарушения.

1б. Существенным недостатком, затрудняющим восприятие текста диссертации является его перегруженность медицинской терминологией типа: эндо(экзо)генные токсикозы, эндоваскулярные проводники, неинвазивные методы, гипоксические состояния и т.п. Во всех таких случаях следовало бы давать пояснения, как, например, это сделано на стр.1 автореферата: «...*внутрисосудистая остановка кровотоков (гемостаз)*». Однако такие пояснения встречаются в единичных случаях.

1в. наконец, встречаются неточности в терминологии, например, *дезинфекционного* (вместо *дезинфицирующего*) действия (см. стр. 192 диссертации); довольно часто автор вместо словосочетания потенциал ПРЦ употребляет просто аббревиатуру ПРЦ (при разомкнутой цепи), что лишает текст смысловой нагрузки. Вряд ли удачны подзаголовки: «Электросинтез растворов на основе.....растворов» (см. 5.2, 5.2.1, 5.2.2) и др.

2. Гораздо меньше претензий вызывает доказательная база диссертации. Здесь, например, можно отметить что:

2а. в раздел 3.4.2 диссертации следовало бы включить данные о диапазоне потенциалов индифферентности ИТО электрода по отношению к тестируемым средам.

2б. в главе 5 следовало бы изучить биосовместимость растворов, синтезированных на основе карбонатных и карбонатно-хлоридных растворов электролитов.

Сделанные замечания не снижают общего положительного впечатления от диссертации А. К. Евсеева и не влияют на её новизну и практическую значимость.

Результаты работы отражены более чем в 50 публикаций, в их числе, 13 статей в российских рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК и 3 статьи в международных рецензируемых журналах, включенных в базы цитирования Scopus и Web of Science. Получены 2 патента Российской Федерации.

Диссертация отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842) и соответствует паспорту специальности 05.17.03 –Технология электрохимических процессов и защита от коррозии (пункт 2 и 3 формулы специальности, пункты 1,4,5,7 области исследований), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 05.17.03 – Технология электрохимических процессов и защита от коррозии.

Отзыв подготовлен ведущим специалистом в области органического

электросинтеза, дхн В. А. Петросяном и обсужден на коллоквиуме лабораторий ИОХ РАН, специализирующихся в области электрохимии органических соединений, объединенных на базе лаб № 1. «27» марта 2015 г., протокол № 1.

Председатель коллоквиума

гл. научный сотр., дхн, проф.

В.П. Гулятья

гл. научный сотр., дхн, проф

В. А. Петросян

Подписи проф. В.П. Гулятья и проф. В.А. Петросяна
удостоверяю,

Ученый секретарь ИОХ РАН, кхн

И.К. Коршевец

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского Российской академии науки.

Адрес: 119991 г. Москва, Ленинский просп., д. 47

Телефон/факс: +7(499)137-29-44 / +7(499)135-53-28

e-mail: secretary@ioc.ac.ru

Официальный сайт: <http://www.zioc.ru/>