

Отзыв официального оппонента

на диссертацию Рубцова Георгия Константиновича на тему
«Модельная биологическая система желточных липопротеидов: параметры спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем молекул средней массы» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.01.04 – «биохимия»

Актуальность темы.

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений. Предметом исследования диссертационной работы, на мой взгляд, является модельная биологическая система желточных липопротеидов, на которой исследуются параметры спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем молекул средней массы. Вопросы комплексного изучения анализируемых тестов, в одной и той же пробе биологического материала, оставались сложными для исследования длительное время, поскольку отсутствовали соответствующие методы.

В настоящее время сложилось известное противоречие между потребностью биохимии, в первую очередь клинической, в соответствующем методе исследования и наличием сложностей методического и теоретического плана. Это дает основание утверждать, что научная проблема, сформулированная в диссертации, – разработка и оптимизация методического обеспечения исследования окислительной модификации белков и молекул средней массы в комплексе, в одной пробе биологической среды, – является актуальной. Решение указанной проблемы позволит увеличить информативность каждого из анализируемых параметров и снизить расход используемого материала, что особенно важно в клинической биохимии, а также открывает возможность поиска новых путей в создании тест-систем для их

мониторинга и оценки, чувствительных к изменению условий протекания окислительных процессов, например металлкатализируемого окисления.

Тема диссертации соответствует заявленной специальности 03.01.04 – «биохимия».

**Степень обоснованности научных положений,
выводов и рекомендаций.**

Автор достаточно корректно использует известные научные методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций. Автором изучены и критически анализируются известные достижения и теоретические положения других авторов, изложенные в обзоре литературы по вопросам клинико-биохимического значения показателей молекул средней массы и окислительной модификации белков в анализе выраженности эндогенной интоксикации, предлагается комплексный подход к их изучению, в том числе возможности применения для этого модельных биологических систем.

Список использованной литературы содержит 189 наименований (140 отечественных, 49 зарубежных). Для анализа спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующей с уровнем молекул средней массы, автором используется модельная биологическая система желточных липопротеидов, исследуемая с помощью разработанного способа оценки маркерных параметров, чувствительных к изменению условий процессов свободно-радикального окисления. Данный способ подтвержден патентом на изобретение Российской Федерации (№ 2525437, в соавторстве) и позволяет выявить закономерности спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы на применяемой модельной биологической системе для обоснования возможного их комплексного использования.

Автор находит объяснение увеличению окислительной модификации белков, регистрируемых при 430 нм и 530 нм, и молекул средней массы при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по отношению к спонтанному окислению, на модельной биологической системе желточных липопротеидов при добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы). С этим можно согласиться, так как известно из данных литературы, что продукты пчеловодства обладают различной степени выраженности антиоксидантной активностью, а ингибирование плазмой крови пероксидации липидов желточных липопротеидов в присутствии ионов Fe^{2+} обусловлено наличием в плазме крови антиоксидантов и (или) веществ, обеспечивающих окисление и связывание ионов Fe^{2+} .

Для подтверждения теоретических положений автором проводятся экспериментальные исследования, целью которых является установление корреляционных взаимосвязей между анализируемыми тестами в модельной биологической системе с добавлением продуктов пчеловодства и/или сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

Близкие результаты были получены экспериментально в работах Р.Р. Фархутдинова, Ю.Л. Баймурзиной (2011), которые при инкубации препаратов продуктов пчеловодства с кровью оценивали их действие на генерацию активных форм кислорода фагоцитирующими клетками. В исследованиях, проведенных этими авторами, показано, что из продуктов пчеловодства максимальное антиоксидантное действие на генерацию активных форм кислорода выявлено у прополиса.

Логично предположить целесообразность применения модельных биологических систем, содержащих продукты пчеловодства и предусматривающих инкубацию в присутствии крови, для выявления степени их влияния на уровень окислительных процессов (как спонтанного, так и металл-индуцируемого характера). Однако ранее не

проводилось комплексное исследование окислительной модификации белков и молекул средней массы и их корреляционных взаимосвязей в соответствующих условиях. Это сделано соискателем впервые в представленной диссертационной работе на модельной биологической системе желточных липопропротеидов.

Опытным путем установлено, что Fe^{2+} -инициированная окислительная модификация белков на модельной биологической системе желточных липопропротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающие антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы) наиболее показательно изменялась, по отношению к спонтанному окислению, при 430 нм и 530 нм (длинах волн, проявивших себя как маркерные).

Показано увеличение окислительной модификации белков, регистрируемой при 430 нм и 530 нм, и молекул средней массы при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по отношению к спонтанному окислению, на модельной биологической системе желточных липопропротеидов при добавлении продуктов пчеловодства и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

Обоснованность результатов, выдвинутых соискателем, основывается на согласованности данных эксперимента и научных выводов. Достоверность экспериментальных данных обеспечивается использованием современного оборудования и методик проведения биохимических исследований. Выдвигаемые научные положения, выносимые на защиту, важны для дальнейшего развития фундаментальных и прикладных аспектов таких научных дисциплин, как биология, медицина, в том числе медицинская биохимия. В работе диссертант грамотно использует аппарат математической статистики, корректно обосновывает возможности комплексного использования маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул

средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов. Выводы соответствуют поставленным цели и задачам исследования, полностью отражая полученные результаты, по их использованию которых предложены практические рекомендации.

Оценка новизны и достоверности.

В качестве новых научных результатов диссертантом выдвинуты положения об особенностях проанализированной модельной биологической системы по уровню окислительной модификации белков различного характера (в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления), регистрируемой по изменению концентрации карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином. Выявлено, что наиболее показательна регистрация уровней окислительной модификации белков при длинах волн 430 и 530 нм, на которых отмечается образование алифатических альдегиддинитрофенилгидразонов и кетондинитрофенилгидразонов основного характера.

Наличие патента на изобретение Российской Федерации на разработанный и применяемый способ определения уровня окислительной модификации белков и молекул средней массы (№ 2525437, в соавторстве) может служить подтверждением научной новизны проведенных исследований.

В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями биологической отрасли знаний, медицины, в частности, медицинской биохимии.

Основные результаты диссертации в достаточной степени полно опубликованы в 16 печатных работах, из них – 9 статей в российских рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней. Они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах и получили одобрение ведущих

специалистов. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы, которой посвящена диссертация, несомненен, представленный эмпирический материал репрезентативен.

Замечания по диссертационной работе в целом.

1. В тексте диссертации автор использует большое количество сокращений, мешающих восприятию и затрудняющих ее прочтение.

2. Излишне подробно в обзоре литературы описано клинико-биохимическое значение исследуемых показателей для мониторинга и оценки выраженности эндотоксикоза, что без особого ущерба может быть сокращено.

3. Следовало бы дать более детальный анализ субстратов и способов инициации свободно-радикальных процессов для модельных биологических систем окислительной модификации белков, которые могут использоваться в перспективе как тест-системы, в том числе для оценки действия ряда природных веществ с антиоксидантной активностью.

Отмеченные недостатки не снижают качество исследований, не носят принципиального характера и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

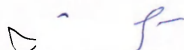
Заключение.

Диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. В работе приведены научные результаты, позволяющие их квалифицировать как решение важной для биохимии, в том числе клинической биохимии, научной задачи – увеличение информативности параметров окислительной модификации белков и молекул средней массы, путем изучения их в комплексе, в одной и той же пробе, снизив расход биологического материала. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы.

Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. Она написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. Диссертационная работа и автореферат отвечает требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор Рубцов Георгий Константинович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «биохимия».

Таким образом, диссертационная работа Г.К. Рубцова «Модельная биологическая система желточных липопротеидов: параметры спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем молекул средней массы» является законченной научно-квалификационной работой. Она содержит новое решение актуальной научной задачи – увеличение информативности параметров окислительной модификации белков и молекул средней массы, имеющей существенное значение для биохимии.

Зав. кафедрой физиологии,
общей биологии и основ
ветеринарии Тверской ГСХА
докт. биол. наук, профессор

 Алексеева Л.В.

170904, Тверская область,
г. Тверь, ул. Маршала Василевского
(Сахарово), д. 7,
т. раб: (84822) 53-16-74
e-mail: alekseeva_lud@mail.ru



Зав. кафедрой
физиологии
и ветеринарии
Тверской ГСХА
Л.В. Алексеева

Зав. ОК
Л.В. Алексеева
14.01.2015,