


«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГАОУ ВПО «Белгородский

государственный национальный

белгородский университет»

 О.Н. Полухин

 2014 года



### ОТЗЫВ

ведущей организации – ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» на диссертационную работу Рубцова Георгия Константиновича «Модельная биологическая система желточных липопротеидов: параметры спонтанной и Fe<sup>2+</sup>-инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем молекул средней массы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «биохимия» в диссертационный совет ДМ 212.263.08 при ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет»

**Актуальность темы.** В последние десятилетия ведется интенсивная работа по изучению особенностей свободно-радикального окисления и биологического значения окислительной модификации ряда биологически активных веществ, имеющих, главным образом, в структуре молекулы ненасыщенные углерод – углеродные связи, что характерно, например, для липопротеинов. И хотя достигнутые успехи значительны, окислительная модификация таких белков остается одной из наиболее слабо изученных областей, а ее параметры, при всей информативности и клинико-биохимической значимости, не находят достаточно широкого практического применения. Сведения, касающиеся данной проблемы в определенной степени противоречивы, и вследствие своей фрагментарности пока не позволяют делать однозначных заключений.

Другим важным вопросом является комплексное применение тестов окислительной модификации белков и молекул средней массы. Известно, что эти параметры чувствительны к изменению степени окислительного стресса, существенный вклад в который вносит свободно-радикальное окисление белков (спонтанное и инициированное), и отражают выраженность эндотоксикоза.

Однако метода, позволяющего изучать их в совокупности, в одной пробе биологической среды, до настоящего времени разработано не было. В этом плане клиническая биохимия выдвигает нуждается в увеличении информативности каждого из этих параметров, снижение расхода используемого материала. Актуально применение для этого модельной биологической системы в условиях спонтанного и инициированного окисления, позволяющей апробировать метод оценки изучаемых параметров.

Модельная биологическая система липопротеинов желтка куриных яиц отличается доступностью получения, и относительно высоким содержанием молекул липопротеинов, склонных к окислению.

Из сказанного выше можно сделать вывод о том, что исследования параметров спонтанной и  $Fe^{2+}$ -инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем МСМ, проведенные на модельной биологической системе желточных липопротеинов, составляющие сущность диссертационной работы Рубцова Георгия Константиновича, актуальны и своевременны.

**Научная новизна.** Автором довольно подробно исследованы уровни окислительной модификации белков, регистрируемые спектрофотометрически по величинам 2,4-дinitрофенилгидразонов различной природы: при 356 нм - алифатических альдегиддinitрофенилгидразонов нейтрального характера, при 370 нм – алифатических кетондinitрофенилгидразонов нейтрального характера, при 430 и 530 – алифатических альдегиддinitрофенилгидразонов и кетондinitрофенилгидразонов основного характера. Соискателем установлено, что наиболее показательна регистрация уровней ОМБ при длинах волн 430 и 530 нм, на которых отмечается образование алифатических альдегиддinitрофенилгидразонов и кетондinitрофенилгидразонов основного характера. Так,  $Fe^{2+}$ -инициированная окислительная модификация белков на модельной биологической системе желточных липопротеинов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы) наиболее показательна изменялась, по отношению к спонтанному окислению, при 430 нм и 530 нм (длинах волн, проявивших себя как маркерные).

Одним из интересных подходов к решению поставленной задачи можно считать разработку и оптимизацию автором методического обеспечения исследования данных параметров окислительной модификации белков в совокупности с уровнем молекул средней массы, в одной пробе биологической среды. Это позволило не только выявить маркерные тесты спонтанной и  $Fe^{2+}$ -инициированной окислительной модификации белков, чувствительные к

изменению условий процессов свободно-радикального окисления, но и на основании полученных данных сделать предположение об их комплексном использовании с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеинов, что подтверждается их корреляционными взаимосвязями.

Использование в работе, ставшего уже классическим метода оценки уровня окислительной модификации белков по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДФГ), с образованием карбонильных производных белков (2,4-динитрофенилгидразонов) в условиях спонтанного и  $Fe^{2+}$ -инициированного окисления, в совокупности с уровнем молекул средней массы на модели желточных липопротеинов, позволил автору получить большой фактический материал. Научная новизна проведенных исследований подтверждается наличием патента на изобретение Российской Федерации на способ определения уровня окислительной модификации белков и молекул средней массы (№ 2525437, в соавторстве). Выявлено увеличение величин 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).

Положительным моментом в рецензируемой работе является то, что все полученные результаты по характеру окислительной модификации белков при спонтанном и  $Fe^{2+}$ -индуцированном окислении автор сопоставляет с известными из литературы данными для других биологических объектов исследования.

Сравнение изученной модельной биологической системы желточных липопротеинов по уровням окислительной модификации белков различного характера исходно и при введении в нее продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и/или сыворотки крови крыс позволило получить убедительные доказательства чувствительности выявленных маркерных тестов к изменению условий процессов свободно-радикального окисления.

Выявлено, что в условиях  $Fe^{2+}$ -индуцированного окисления, по сравнению со спонтанным окислением, при добавлении к желточным липопротеидам сыворотки крови или продуктов пчеловодства имеет место увеличение уровня окислительной модификации белков, регистрируемой при 430 нм; при 530 нм – аналогично, за исключением модельной биологической системы желточных липопротеидов с добавлением маточного молочка. При

добавлении к модельной биологической системе желточных липопротеидов сыворотки крови выявлено, что уровень молекул средней массы в ней меньше, чем в самой сыворотке крови (и самок и самцов) и при спонтанном окислении, и при  $Fe^{2+}$ -индуцированном окислении. Аналогичные тенденции установлены на модельной биологической системе желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

Интерес представляют и данные о биохимических особенностях продуктов пчеловодства по исследуемым тестам и их влиянии на модельную биологическую систему желточных липопротеидов в плане дальнейших разработок фармакологических препаратов и индикаторных тест-систем оценки свободно-радикальных процессов. Автором показана перспективность комплексного использования модельной биологической системы желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) при спонтанном и  $Fe^{2+}$ -индуцированном окислении: «желточные липопротеиды + продукты пчеловодства или сыворотка крови крыс», «желточные липопротеиды + продукты пчеловодства + сыворотка крови крыс».

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные Г.К.Рубцовым результаты дают дальнейшее развитие научным представлениям о молекулярно-биохимических механизмах окислительной модификации белков в условиях спонтанного и  $Fe^{2+}$ -индуцированного окисления, изученных в комплексе с молекулами средней массы и с учетом их корреляционных взаимосвязей на модельной биологической системе желточных липопротеинов.

Экспериментальные данные, характеризующие чувствительность желточных липопротеидов к изменению условий процессов свободно-радикального окисления на основе маркерных параметров окислительной модификации белков, имеют важное значение в разработках новых тест-систем оценки металлокатализируемого окисления. Результаты работы могут быть использованы в клинико-биохимической практике при построении программ мониторинга эндогенной интоксикации с применением тестов окислительной модификации белков и молекул средней массы.

**Рекомендации по использованию результатов работы.** Проведенные Г.К.Рубцовым исследования требуют дальнейшего своего развития в работах коллективов научно-исследовательских институтов и других организаций, занимающихся проблемами клинической биохимии, а также изучением

биохимических механизмов инициирования окислительной модификации липопротеинов и формированием новых тест- систем.

**Общие замечания.** У сотрудников кафедры, представляющей ведущее учреждение, возникли некоторые вопросы и замечания, носящие дискуссионный характер и не имеющие значения в оценке достоинств работы.

1. Слово сочетание «молекулы средней массы» представляется не совсем точным. Исходя из спектрофотометрического анализа, речь идет об образовании ААК. Для более глубокого понимания характера и механизмов реакции модельной биологической системы липопротеинов желтка куриного яйца на металлокатализируемое окисление, было бы целесообразным проследить изменения окислительной модификации белков не только в условиях  $Fe^{2+}$ -индуцированного окисления, но и одного-двух других металлов (например, меди, кобальта). Тем более, что сам автор отмечает, что, по данным литературы, уровень металлокатализируемого окисления является важным диагностическим и прогностическим показателем.

2. Автором показано влияние продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, на спонтанную и  $Fe^{2+}$ -иницированную окислительную модификацию белков и уровни молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеинов. Было бы целесообразным дать более детальную биохимическую оценку полученных данных.

3. В связи с тем, что ответная реакция модельной биологической системы липопротеинов желтка яиц на металлокатализируемое окисление зависит от его длительности, интересными были бы данные и об изменениях ее в динамике наблюдений при многократно повторяющемся действии ионов металлов, инициаторов окислительной модификации белков или их разной концентрации.

Высказанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают ценности работы.

### Заключение

Диссертация Г.К. Рубцова «Модельная биологическая система желточных липопротеинов: параметры спонтанной и  $Fe^{2+}$ -инициированной окислительной модификации белков в комплексе с уровнем молекул средней массы» представляет законченную научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Работа содержит решение важной научной задачи – повышение информативности параметров окислительной модификации липопротеинов и низкомолекулярных соединений депротеинезированной жидкости за счет исследования их в комплексе, в одной и той же пробе, снизив расход биологического материала и реактивов, что имеет научное и прикладное значение для биохимии и клинической биохимии. Диссертационная работа отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК Российской Федерации к работам такого рода (п. 10, 12) и ее автор Рубцов Георгий Константинович заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 «биохимия».

Работа обсуждена на заседании кафедры биохимии факультета лечебного дела и педиатрии медицинского института Белгородского государственного исследовательского университета 9 декабря 2014 г. протокол № 5 .

Зав. кафедрой биохимии  
доктор биологических наук, профессор  
Лауреат премии Совета Министров СССР

А.А. Шапошников

308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы  
Тел. (4722) 30-14-11, FAX (4722) 30-10-12  
e-mail: Shaposhnikov@bsu.edu.ru

