

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке, инновациям и цифровизации
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования

«Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»)



 Д.В. Костин

06.02 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» на диссертационную работу Пугаченко Игоря Сергеевича «Влияние метаболитов оксида азота на окислительную модификацию белков и липидов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы исследования.

Оксид азота (NO) представляет собой чрезвычайно важную сигнальную молекулу, биосинтез которой осуществляют практически все живые организмы. NO участвует в регуляции многих физиологических процессов, таких как пролиферация, апоптоз, нейротрансмиссия, иммунный ответ. В основе механизмов регуляторного действия NO лежит взаимодействие данного соединения с гемовым железом белков, а также способность быстро реагировать с рядом свободных радикалов. NO в настоящее время нашёл широкое применение в медицине и используется для коррекции артериального давления, в качестве кардиопротекторного средства при ишемии, гипертонии, инсульте, а также для лечения онкологических заболеваний. Поскольку молекула NO имеет короткое время жизни, в медицинской практике используют доноры оксида азота, к которым, помимо прочего, относятся нитрозильные комплексы переходных металлов. В последние годы значительное внимание уделяется изучению динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), являющихся физиологическим донором NO. ДНКЖ могут образовываться в организме, причём наиболее часто в их биосинтезе участвует глутатион. В соответствии с этим, автор диссертации наибольшее внимание уделил исследованиям ДНКЖ с глутатионовыми лигандами. Помимо этого, в ходе работы проводилось изучение метаболита NO – нитроксила. ДНКЖ с глутатионовыми лигандами и доноры нитроксила представляют интерес для медицины в качестве соединений, на основе которых возможно создание лекарственных средств, направленных на лечение сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме этого, исследуемые соединения могут вступать в реакции со свободными радикалами, оказывая, в зависимости от состава, антиоксидантное или прооксидантное действие. В частности, ДНКЖ с тиоловыми лигандами вызывают интерес с точки зрения

наличия цитотоксической активности, поскольку входящее в их состав двухвалентное железо катализирует перекисное окисление липидов. Прооксидантное действие ДНКЖ может также быть обусловлено тиоловыми лигандами, которые окисляются с образованием тиольных радикалов. Принимая во внимание разнообразие эффектов, которые могут оказывать ДНКЖ, результаты настоящего исследования являются актуальными, своевременными и вносят существенный вклад в понимание аспектов антиоксидантного и прооксидантного действия физиологических метаболитов NO на биологические молекулы.

Новизна исследования.

Диссертантом впервые было исследовано влияние физиологических метаболитов оксида азота, ДНКЖ и нитроксила на процессы свободнорадикального окисления ряда биологических молекул липидной и белковой природы в модельных тест-системах. Автором впервые показано, что нитроксил замедляет реакции неферментативного гликирования белков благодаря антиоксидантному и антирадикальному действию. Получены оригинальные данные, касающиеся образования ДНКЖ в митохондриях при воздействии на них активными формами кислорода и азота. Кроме этого, установлена способность нитроксила участвовать в образовании и регенерации ДНКЖ, а также в регенерации альфа-токоферола. Таким образом, полученные диссертантом результаты являются новыми и в полной мере подтверждают выносимые на защиту положения.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций.

Для достижения целей исследования автором были поставлены адекватные задачи, которые удалось полностью решить с использованием широкого набора современных биохимических методов, а также с привлечением биофизических и микробиологических методологических подходов.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций обеспечивается достаточным числом проведенных экспериментов, а также использованием методов, соответствующих поставленным задачам. Для анализа полученных результатов автор не использовал статистическую обработку данных, что позволяет сделать вывод о достоверности имеющихся различий. Выводы, сформулированные Пугаченко И.С., содержательны и полностью соответствуют поставленным задачам.

Апробация работы и публикации.

Результаты диссертационной работы были представлены на российских и международных научных конференциях, по материалам которых опубликовано 8 тезисов. Основные полученные в ходе работы данные представлены в 8 статьях, 4 из которых опубликованы в отечественных и зарубежных научных изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий ВАК РФ. Тема статей и тезисов докладов соответствует содержанию представленной диссертации.

Значимость для науки и практики.

Теоретическую значимость проведенного исследования составляют полученные диссертантом результаты, демонстрирующие, что функции ДНКЖ в биологических системах не ограничиваются депонированием и транспортом NO, а включают также регуляцию ряда редокс-зависимых процессов. Данные об анти- и прооксидантных аспектах

функционирования ДНКЖ могут способствовать обнаружению новых сигнально-регуляторных путей оксида азота в биологических системах. Найденное в ходе выполнения исследования антиоксидантное действие нитроксила в системе окисления гемоглобина расширяет представления о биологической активности метаболитов NO, образующихся в живых организмах.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы сведения об антирадикальном и антигликирующем действии ДНКЖ, которые, помимо этого, обладают кардио- и вазопротекторным потенциалом, могут служить основой для разработки лекарственных препаратов, обладающих несколькими видами фармакологической активности, а также позволят расширить область применения ДНКЖ и доноров нитроксила.

Соответствие содержания диссертации автореферату и указанной специальности.

Материалы, представленные в автореферате, изложены ясным языком и отражают все основные положения диссертационной работы. После ознакомления с авторефератом можно получить полное представление о содержании и качестве диссертационной работы. Данные о влиянии ДНКЖ и доноров нитроксила на окислительную модификацию белков и липидов получены, главным образом, с привлечением биохимических методов, и полностью соответствуют специальности 1.5.4. Биохимия.

Оценка содержания диссертации, замечания и вопросы.

Структура диссертации является стандартной для работ подобного рода и состоит из Введения, Обзора литературы, Материалов и методов исследования, Результаты и обсуждения, Заключение, Выводов и Списка литературы, включающего 352 источника. Обзор литературы составлен обстоятельно, содержит современные сведения о рассматриваемых проблемах и в полной мере освещает вопросы, касающиеся темы диссертации. Значительное внимание уделено характеристике основных типов свободных радикалов и реакций с их участием, метаболизму оксида азота, его донорам, физиологическим функциям и комплексным соединениям, включающим данную молекулу. Приводятся сведения о процессах гликирования биологических молекул, роли карбонильного стресса в биосистемах, а также взаимосвязи гликирования со свободными радикалами и метаболитами оксида азота.

Глава Материалы и методы содержит подробное описание методических подходов, которые представляются адекватными поставленным задачам.

Приведенные в работе выводы и положения, выносимые за защиту, аргументированы, опираются на полученные в ходе работы результаты и обосновываются с точки зрения общепринятых теоретических закономерностей.

Вместе с тем, к работе имеется ряд замечаний, которые, однако, не снижают ценности диссертации.

1. Описываемая в диссертации методика синтеза ДНКЖ с N-ацетилцистеином, липоевой кислотой и глутатионом, а также способ получения токофероксильного радикала были разработаны автором или использовались известные методы? В первом случае следовало бы представить сведения о выходе синтезируемых соединений и их чистоте, во

втором случае целесообразно привести ссылки на литературу с описанием методов синтеза. Если соединения автором были получены от коллег, это также необходимо отметить.

2. Чем был обусловлен выбор восстановленного глутатиона в качестве вещества для сравнения антиоксидантного потенциала при исследовании влияния ДНКЖ на перекисное окисление липидов? По какому принципу подбирались концентрации исследуемых соединений?

3. Чем можно объяснить появление дополнительного максимума на кривой хемиллюминесценции при изучении влияния соли Ангели на образование свободнорадикальных продуктов в реакции гемоглобина с метилглиоксальем?

4. Насколько эффективнее может оказаться нитроксил по сравнению с глутатионом с точки зрения защиты гемоглобина от окисления в эритроцитах? Может ли нитроксил потенциально компенсировать дефицит восстановленного глутатиона в случае недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы?

5. Использовался ли контрольный антиоксидант при оценке влияния ДНКЖ, свободного NO, цистеина и метилглиоксала на зависимую от люминола хемиллюминесценцию в условиях соокисления липосом и глюкозы?

Из пожеланий автору можно было бы рекомендовать проведение исследований антиоксидантного потенциала ДНКЖ в биологических средах или матрицах, состав которых приближен к биологическим жидкостям, а также в экспериментах *in vivo*.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Полученные диссертантом результаты могут быть использованы при проведении научно-исследовательской работы и в учебном процессе при чтении лекций по общему курсу «Биологическая химия», спецкурсов по свободнорадикальным процессам в биологических системах, патобиохимии в Воронежском государственном университете, Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Санкт-Петербургском государственном университете, Южном федеральном университете, Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН и ряде других учебных и научных центров России.

Заключение.

Диссертационная работа Пугаченко Игоря Сергеевича «Влияние метаболитов оксида азота на окислительную модификацию белков и липидов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для современной биохимии.

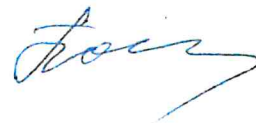
По актуальности, научной новизне, фундаментальной и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Пугаченко Игоря Сергеевича соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с актуальными изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор работы, Пугаченко Игорь Сергеевич, заслуживает

присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв на диссертацию рассмотрен, обсужден и утвержден на совместном семинаре кафедры медицинской биохимии, молекулярной и клеточной биологии и кафедры генетики, цитологии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»), протокол заседания № 2 от 22.01.2024 года (за 15, против нет, воздержавшихся нет).

Отзыв составил

Попова Татьяна Николаевна,



декан медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «ВГУ»,

зав. кафедрой медицинской биохимии, молекулярной и клеточной биологии,

доктор биологических наук по специальности 03.00.04 Биохимия

профессор, заслуженный деятель науки РФ.

Контактные данные:

Тел.: +7 473 228 11 60 (1110), e-mail: popova@bio.vsu.ru

Адрес места работы: 394018, Россия, Воронеж, Университетская пл., 1,

Федеральное государственное бюджетное

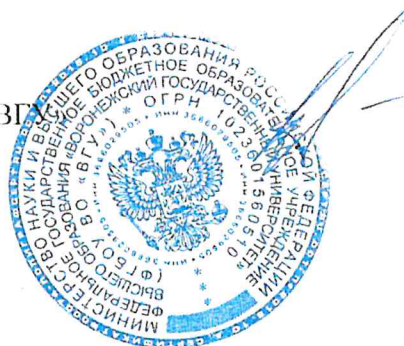
образовательное учреждение высшего образования

«Воронежский государственный университет»

Тел.: +7 (473) 220-75-21, e-mail: office@main.vsu.ru

Подпись Т.Н. Поповой заверяю

Учёный секретарь ФГБОУ ВО «ВГУ»



06.02.2024

М.А. Лопаева