

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Араповой Анастасии Ивановны на тему «Лизосомальный цистеиновый протеолиз мышечных тканей в условиях изменения синтеза оксида азота», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Актуальность темы исследования

В основе реализации любых функций клетки, особенно сократительной, лежит, с одной стороны, наличие соответствующих белков в конформационном состоянии, позволяющим осуществить их взаимодействие и, как следствие, мышечное сокращение, с другой, адекватную мышечной деятельности активность системы энергообеспечения и регуляции данного процесса, позволяющие обеспечить процесс миодилатации. Поскольку в процессе активной сократительной деятельности высока вероятность повреждения сократительных белков, в том числе и активными формами кислорода, возникает потребность своевременной репарации поврежденных структур с участием соответствующих катепсинов. С этой точки зрения работа, рассматривающая молекулярные механизмы взаимодействия лизосомальных протеиназ, обеспечивающих деградацию «поврежденных» белков, системы синтеза NO, регулирующей в мышечной ткани процесс миодилатации и системы СРО, зачастую, ставящую «черную метку» на белки в убиквитинзависимом протеолизе, не просто представляет интерес в научном плане, но и дает фундаментальную основу для практической реализации технологий коррекции деятельности миокарда, скелетной мускулатуры, состояния сосудистого русла и, по большому счёту, физической работоспособности индивидуума и качества его жизни. Поскольку диссертационное исследование Араповой А.И. «Лизосомальный цистеиновый протеолиз мышечных тканей в условиях изменения синтеза оксида азота» находится в рамках данной проблемы, её актуальность и практическая значимость не вызывают сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достаточный объем исследования, использование адекватных поставленной цели и решаемым задачам исследования экспериментальных моделей и биохимических методик, детальный и поэтапный анализ полученных результатов, обоснованный тщательной статистической обработкой, позволяют говорить о высокой степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Задачи исследования полностью согласуются с его целью. Полученный фактологический материал обобщен в виде четырёх положений, выносимых на защиту и четырёх выводов.

Как положения, выносимые на защиту, так и выводы построены на логическом принципе сопоставления состояния лизосомального цистеинового протеолиза с показателями окислительной модификации белков и системы синтеза оксида азота. Такое изложение полученных данных позволяет автору наиболее наглядно продемонстрировать зависимость активности лизосомальных цистеиновых протеиназ от состояния NO-синтазной системы.

Выводы сформулированы как обобщение результатов проведенных экспериментов и анализа литературных данных и согласуются с задачами работы и ее целью.

Результаты диссертационной работы Араповой А.И. в полной мере отражены в 15 печатных работах, в том числе в 6 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования РФ для публикаций материалов диссертационных работ.

Степень научной новизны и достоверность результатов исследования

Результаты, полученные в диссертационной работе Араповой А.И., а также выводы и рекомендации, сформулированные автором, обладают необходимой степенью достоверности и научной новизны. Применение общепринятых моделей регуляции синтеза оксида азота, современных биохимических методов оценки окислительной модификации белков, состояния СРО и активности изоформ лизосомальных цистеиновых протеиназ, позволило автору выявить сопряжение активности NO-синтазной системы с окислительной модификацией белков в изучаемых мышечных тканях, а также с активностью ЛЦП.

Автору удалось убедительно продемонстрировать роль подавления синтеза оксида азота субстратом и неселективным ингибитором NO-синтазы в изучаемых тканях в дестабилизации лизосомальных мембран. Важным моментом исследования, безусловно, является выявленная автором способность карнитина проявлять мембраностабилизирующий эффект на фоне ингибитора синтеза оксида азота.

Исследование выполнено на достаточно большом числе экспериментальных животных, опытные группы сформированы адекватно поставленным задачам, полученные результаты подвергнуты статистическому анализу с проверкой нормальности распределения данных, в связи с чем достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Характеристика содержания работы

Диссертация построена по классическому типу, включает введение, обзор литературы, общую характеристику условий экспериментов и методов исследования, главу собственных исследований, заключение, выводы, приложение. Список литературы содержит 181 источник, из них 78 российских и 103 зарубежных. Объем работы составляет 191 страница

машинописного текста, содержит 51 рисунок и 32 таблицы (18 в тексте и 14 в приложении).

Во введении раскрывается актуальность проблемы, обосновывается цель и задачи, решение которых обеспечить её достижение; показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов, достоверность полученных результатов, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, апробация работы, указано количество публикаций, объем и структура диссертации.

«Обзор литературы» - включает в себя тщательный анализ современных исследований в изучаемой диссертантом области. Рассмотрены разные стороны структурно-функциональной организации и биохимической роли катепсинов, многофакторной регуляции их активности, в том числе и при окислительном стрессе. Рассматриваются взаимосвязи окислительной модификации белков с реализацией функции ЛЦП в норме и патологии. Акцентируется внимание на роль оксида азота, как в поддержании гомеостаза, так и универсального трансммитера в развитии различных патологических состояний.

Литературный обзор завершается логичным подтверждением целесообразности проведения данного исследования.

Глава с описанием методов исследования, использованных диссертантом написана весьма тщательно и позволяет, при необходимости, воспроизвести данные методики с получением сопоставимых результатов в других лабораториях. Все методики являются достаточно современными, адекватны цели и поставленным задачам.

«Результаты исследований и их обсуждение», содержит материалы собственных исследований и их обсуждение. Раздел 3.1 включает в себя анализ экспериментальных данных по влиянию изучаемых веществ на изменение концентрации метаболитов оксида азота в исследуемых гомогенатах и плазме крови крыс. Акцентируется внимание, что сочетанное применение изучаемых модуляторов демонстрирует сохранение эффекта субстрата синтеза для плазмы крови и появление статистически значимого нарастания метаболитов в тканях. При этом карнитин, как отдельно, так и в сочетаниях с регуляторами синтеза оксида азота индуцирует увеличение концентрации метаболитов оксида азота.

В разделе 3.2 представлены данные изменения спектра поглощения продуктов окислительной модификации белков; суммарного содержания первичных и вторичных маркеров окислительного стресса; распределения долей первичных и вторичным маркеров относительно общего содержания карбонильных производных; влияния L-аргинина, L-NAME, карнитина как изолированно, так и в сочетании с L-NAME на резервно-адаптационного потенциала клетки. Следует отметить, что при выполнении данного раздела работы использовалась собственная оригинальная методика (патент 2524667 РФ. МПК G01N 33/52).

Раздел 3.3 содержит данные об активности и распределении катепсинов В, L, Н; показатели проницаемости лизосомальной мембраны и степени

аутопроцессинга ферментов в экспериментальных моделях, представленных диссертантом.

Данные раздела 3.4 обосновывают взаимосвязь между окислительной модификацией белков и изучаемыми клеточными фракциями катепсинов, а также вклад процессов окислительной модификации белков и концентрации конечных метаболитов оксида азота в регуляцию активности изучаемых ферментов

В заключении Арапова А.И. сжато излагает и обсуждает результаты проведенного исследования, давая их интерпретацию на основе анализа литературных данных и, например, убедительно доказывает наличие взаимосвязи между изменением активности катепсинов В, L, Н и окислительным повреждением белков.

Выводы, представленные автором, с моей точки зрения, весьма далеки от совершенства, но при этом их смысловая нагрузка органично вытекает из полученных результатов.

Приложение содержит материалы, оформленные в виде 15 таблиц, что существенно облегчает сопоставление полученных диссертантом данных с результатами других авторов.

Автореферат отражает все основные положения диссертации. По результатам исследования опубликовано 15 печатных работ, из них 6 в журналах по перечню ВАК РФ.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты, полученные автором, безусловно, расширяют представление о биохимических механизмах взаимосвязи между активностью различных изоформ катепсинов, окислительной модификацией белков и активностью NO-синтазной системы. Практическая значимость работы определяется теоретическим обоснованием разработки технологий коррекции деятельности миокарда, скелетной мускулатуры, состояния сосудистого русла при определенных состояниях.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Диссертационная работа Араповой Анастасии Ивановны представляет собой самостоятельное законченное научное исследование. Существенно портит общее позитивное впечатление от данной работы наличие в тексте явных биохимических ляпов. Несмотря на отсутствие принципиальных замечаний, при ознакомлении с работой возникли следующие вопросы:

- 1) Вы много в диссертации говорите об антиоксидантной активности карнитина. Не могли бы Вы объяснить конкретные биохимические механизмы реализации данного эффекта карнитина;
- 2) Вы относите L-карнитин к регуляторам синтеза NO – не могли бы Вы уточнить конкретные биохимические механизмы этого регуляторного влияния?

- 3) Насколько правомерно, с вашей точки зрения противопоставление карбонильного стресса оксидативному?
- 4) Чем вы можете объяснить разнонаправленное изменение первичных маркеров оксидативного стресса в изучаемых мышечных тканях под влиянием различных регуляторов синтеза NO?
- 5) Не могли бы Вы подробнее объяснить роль оксида азота в скелетной мускулатуре?

Заключение

Диссертация «Лизосомальный цистеиновый протеолиз мышечных тканей в условиях изменения синтеза оксида азота» Араповой А.И., представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение научной задачи фундаментального характера по проблеме влияния изменения уровня синтеза оксида азота на состояние лизосомального цистеинового протеолиза мышечных тканей. Диссертация соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.01.04 - биохимия.

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой биохимии
ФГБОУ ВО «Оренбургский Государственный
медицинский университет» Министерства
Здравоохранения Российской Федерации

Никонов Александр Александрович



Почтовый адрес: 460014, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6. ФГБОУ ВО
ОргМУ Минздрава России. Тел.: 8(3532) 774867, <http://www.orgma.ru> e-mail:
orgma@esoo.ru

Личную подпись	
заверяю	
Начальник отдела кадров	