

О Т З Ы В

Официального оппонента на диссертационную работу Ромодина Леонида Александровича «Корректное применение хинолизидированных производных кумарина для изучения комплекса цитохрома С с кардиолипином», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – биофизика.

1. Актуальность темы.

Известно, что для протекания апоптоза необходимо образование комплекса цитохрома С с кардиолипином, изменение конформации цитохрома С и появление в нем доступного для субстратов активного центра, осуществляющего пероксидацию – гемового железа со свободной валентностью, что и обуславливает проявление цитохромом с пероксидазной активностью по отношению к липидам. Знание механизмов этого процесса чрезвычайно важно, как для фундаментальной науки, так и для разработки лекарственных средств, позволяющих корректировать течение многих заболеваний, в основе развития которых лежат нарушения апоптоза.

В связи с вышесказанным актуальность диссертационного исследования Леонида Александровича Ромодина, целью которого является разработка корректного метода применения хинолизидиновых производных кумарина: хинолизидин[5,6,7-*gh*]3-этоксикарбонилкумарина, хинолизидин[5,6,7-*gh*]3-ацетилкумарина и хинолизидин[5,6,7-*gh*]3,2'-бензимидазолилкумарина для изучения кинетики процесса ПОЛ, катализируемого факультативной пероксидазой на примере комплекса ЦитС-КЛ, не вызывает сомнений.

2. Научная новизна результатов и выводов.

Научная новизна исследования заключается в выяснении механизма участия хинолизидиновых производных кумарина в каталитическом пероксидазном цикле: они являются восстанавливающими субстратами ферриформы ЦитС с двумя окисленными эквивалентами; разрушаются в процессе липопероксидазной реакции, катализируемой цитохромом С. Автором работы

впервые определены константы скорости данного процесса, на их основе выведены функции вычисления поправочных коэффициентов для обработки ХЛ-кривых, вычислены константы скорости разрушения железопорфириновой группировки в составе молекулы ЦитС в процессе катализа пероксидазной реакции. Установлен различный характер действия антиоксидантов ДГК (таксифолина) и тролокса на процесс ПОЛ, запускаемый ЦитС-КЛ, что может иметь значение для их использования в медицине и ветеринарии.

3. Степень обоснованности и достоверность результатов.

Научные положения, составляющие новизну работы, результаты и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы большим массивом экспериментальных данных, полученных такими биофизическими методами, как спектроскопия, хемилюминесценция, спектрофлуорометрия на самых современных приборах. Объём экспериментального материала, его взаимная согласованность и высокий научный уровень, надёжная статистическая обработка позволяют заключить, что результаты Л.А.Ромодина являются достоверными. Положения, составляющие новизну работы, хорошо апробированы, представлены на Всероссийских конференциях и симпозиумах.

4. Значимость полученных результатов для науки.

К наиболее значимым и важным можно отнести следующие результаты, полученные в работе:

- а) хинолизидиновые производные кумарина являются восстанавливающими субстратами ЦитС, проявляющего свойства фермента-пероксидазы, они расходуются во время липопероксидазной реакции, что ведёт к снижению интенсивности хемилюминесценции, в связи с чем при обработке кривых необходимо вводить поправочные коэффициенты;
- б) цитохром *c* разрушается при катализе пероксидазной реакции и не разрушается при катализе квазилипоксигеназной реакции;

в) антиоксиданты ДГК (таксифолин) и тролокс различным образом действуют на процесс ПОЛ, запускаемый ЦитС-КЛ.

Результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, прежде всего данные о механизме действия антиоксидантов и хлорофилла на исследуемую окислительную систему, имеют практическую значимость. Методика определения участия активатора ХЛ в ферментативных пероксидазных реакциях, которая позволяет исследовать различные вещества на предмет возможности их применения в качестве активаторов ХЛ для оценки течения реакции образования свободных радикалов, запатентована.

5. Оценка изложения материала, публикаций и автореферата.

Диссертационная работа Л.А. Ромодина представляет собой законченное научное исследование. Диссертация состоит из Введения, четырёх глав, из которых глава 1 – Литературный обзор; глава 2 – Материалы и Методы; глава 3 – Результаты; глава 4 – Обсуждение результатов; заключения и выводов; списка литературы. Диссертация изложена на 185 стр., содержит 39 рисунков, список цитированной литературы включает 459 наименований.

В разделе «Введение» обозначена актуальность работы, показана степень разработанности темы исследования, на основании чего определены цели и задачи выполненной работы, сформулирована научная новизна и практическая значимость полученных результатов, приведены данные по апробации работы и публикациях.

В Литературном обзоре обобщены современные представления об окислительном стрессе и свободнорадикальном окислении в организме, апоптозе и роли комплекса цитохромС-кардиолипидов в этом процессе, обнаружении свободных радикалов в биологических системах, активаторах хемилюминесценции и антиоксидантах. В главе «Материалы и Методы» четко охарактеризованы используемые химические и биохимические материалы, а также приборы, которыми автор пользовался во время выполнения работы, подробно описаны биофизические методы исследования

со всеми модификациями, методы расчёта поправочных коэффициентов. Главы 3 и 4 посвящены описанию результатов работы и их обсуждению.

Основные результаты работы изложены в 5-ти статьях в журналах из перечня ВАК по специальности 1.5.2. Биофизика, 2-х статьях в журнале, включённом в МБЦ Scopus, и 20 тезисах докладов в сборниках материалов научных конференций; имеется 1 патент на изобретение.

Автореферат полно и точно отражает содержание работы.

6. Замечания по содержанию работы.

Вместе с тем по представленной работе можно задать ряд вопросов и высказать пожелания, которые не ставят под сомнение основные результаты диссертации, определяющие её научную новизну:

- 1) в обширном обзоре литературы Л.А. Ромодин не всегда цитирует основополагающие работы авторов, так, например, к работам Е.Б.Бурлаковой : процитированы работы последних лет, но отсутствуют ссылки на статьи, посвящённые механизму действия антиоксидантов , выполненные методом хемилюминесценции (Успехи химии, 1985, 1986 гг); для подтверждения роли свободных радикалов в регуляции размножения клеток автор цитирует сборники медицинской литературы, хотя поэтому поводу были написаны специальные статьи;
- 2) в разделе «Материалы и Методы» желательно указать состав жирных кислот в используемой фосфатидной кислоте и кардиолипине быка;
- 3) при сопоставлении антиоксидантных свойств ДГК и тролокса желательно было бы провести дополнительные эксперименты для выяснения различий в механизме их действия, например, исследовать несколько меньших концентраций.

7. Заключение по диссертационной работе.

Оценивая диссертацию в целом, считаю, что работа выполнена с применением адекватных решаемым задачам методов исследования, содержит новые научные положения и представляет собой законченную

научно-исследовательскую работу, в которой определены кинетические закономерности ферментативной липопероксидазной реакции, инициированной хинолизидиновыми производными кумарина.

По актуальности темы, объёму выполненных исследований, новизне полученных результатов, использованным методам исследования, практической значимости результатов исследования работа Л.А. Ромодина удовлетворяет критериальным требованиям, установленными пунктами 9-14 « Положения о присуждении учёных степеней », утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 с изменениями, утверждёнными Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335 «О внесении изменений в положение о присуждении учёных степеней», а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – биофизика.

Надежда Павловна Пальмина,
доктор биологических наук, профессор,
ФГБУН Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН,
главный научный сотрудник лаборатории
физико-химических основ регуляции
биологических систем 118337 Москва
ул. Косыгина д.4 npalm@mail.ru

Подпись Пальминой Н.П. заверяю
Зам. Директора ИБХФ РАН
Трофимов А.В.

Пальмина



Сведения об оппоненте

ПАЛЬМИНА Надежда Павловна

Учёная степень, звание: доктор биологических наук (специальность 03.01.02 Биофизика), профессор

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук», лаборатория физико-химических основ регуляции биологических систем.

Должность: главный научный сотрудник

Адрес организации: 119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

Адрес эл. почты организации: ibcp@sky.chph.ras.ru

Телефон: +7(499)137-6420

Факс: +7(499)137-4101

Сайт организации: <http://www.biochemphysics.ru/>

Научные публикации ведущего оппонента по тематике диссертационного исследования Ромодина Л.А. за последние пять лет (2017–2021 гг.):

1. Пальмина Н.П., Мишарина Т.А., Крикунова Н.И., Антипова А.С., Мартиросова Е.И., Семёнова М.Г. «Изменения в составе жирных кислот липидов печени и головного мозга мышей при приёме наноллипидных комплексов», *ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ*, 2021, том 57, № 2, с. 179–186 IF = 1,386, Q3, Scopus
2. Сажина Н.Н., Плащина И.Г., Семенова М.Г., Пальмина Н.П., Изменения размеров и дзета-потенциала фосфатидилхолиновых липосом с включёнными нутрицевтиками в процессе их иницированного окисления, *Коллоидный Журнал*, 2020, 82 (1) 89–95. IF= 1,0, Q4
3. Сажина Н.Н., М.Г. Семенова М.Г., Антипова А.С., Мартиросова Е.И., Н.П. Пальмина Н.П., Влияние состава липосомальных комплексов на антиокислительную активность плазмы крови и липидов печени и мозга мышей, *Биофизика*, 2020, 65 (4), 760–768. IF=0,163, Q4
4. Semenova M.G., Zelikina D.V., Antipova A.S., E.I. Martirosova E.I., Palmina N.P., Chebotarev S.A., Samuseva Y.V., Bogdanova N.G., Kasparov V.V., Impact of the character of the associative interactions between chitosan and whey protein isolate on the structure, thermodynamic parameters, and functionality of their complexes with essential lipids, *Food Hydrocolloids*, 2020, 105, 105803. IF=7.053, Q1
5. Пальмина Н.П., Богданова Н.Г., Сажина Н.Н., Каспаров В.В., Бинюков В.И., Плащина И.Г., Антипова А.С., Семёнова М.Г., Взаимосвязь между перекисным окислением липидов и микровязкостью в липосомах из фосфатидилхолина. Влияние растительного антиоксиданта и белка, *Биофизика*, 2019, 64(4) 696–705. IF=0,163, Q4.
6. Сажина Н.Н., Антипова А.С., Семенова М.Г., Пальмина Н.П., Иницированное окисление фосфатидилхолиновых липосом с включёнными в них функциональными нутрицевтиками, *Биоорганическая химия*, 2019, 45(2) 193-201, IF=0,90, Q4

7. Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Бинюков В.И., Каспаров В.В., Антипова А.С., Семёнова М.Г., Структурное состояние и форма свободных и инкапсулированных биополимерами липосом из фосфатидилхолина в отсутствие и в присутствии растительных антиоксидантов, *Биофизика*, 2018 63 (1) 78-85, IF=0,163, Q4
8. Академик РАН Коновалов А.И., Рыжкина И.С., Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Сергеева С.Ю., Муртазина Л.И., Салахутдинова О.А., Шевелёв М.Д., Жерновков В.Е., Взаимосвязь самоорганизации и мембранных эффектов водных дисперсных систем олигопептида тиролиберина», *ДАН*, 2017, 474 (2) 191–195, IF=0,661, Q4