

12 ВФР 2016

Вх.№

53/03-07/190

## Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу Токарчук Катерини Олександрівни “Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*”, подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 - біохімія.

Серед незлічених параметаболічних реакцій, що постійно протікають в живому організмі, неферментативне глікозилювання білків посідає особливе місце. Внаслідок глікації білки набувають якісно нових властивостей, стаючи функціонально неповноцінними, імуногенними та токсичними, що призводить до істотних порушень нормального перебігу фізіологічних процесів. Протягом досить тривалого часу вважали, що надмірна глікація білків зумовлена підвищеним рівнем глюкози. Подібна точка зору – на прикладі глікованих гемоглобіну та альбуміну за цукрового діабету – давно вже стала загальним місцем підручників з біохімії. Однак наукові здобутки останніх років переконливо довели її хибність. З’ясовано, що реакція глікації білків опосередкована не тільки, і не стільки глюкозою, скільки значно більш реакційноздатними карбонільними сполуками, що постійно утворюються в організмі і чий вміст за певних патологічних станів істотно зростає. За нормального стану вміст карбонільних сполук перебуває під контролем певних ферментативних систем, порушення ж нормального функціонування останніх призводить до розвитку складного каскаду реакцій, що зумовлюють оксидативний стрес та задіяні в патогенезі найрізноманітніших захворювань. Тому дослідженню шляхів утворення карбонільних сполук в організмі, механізмів їх ушкоджуючої дії та шляхів нейтралізації останньої присвячено велику кількість наукових робіт. При цьому, не зважаючи на очевидну актуальність, пошукам сполук, здатних ефективно нейтралізувати альдегіди в умовах живого організму, приділено недостатньо уваги. Зумовлено це низькою біосумісністю подібних сполук, чиї побічні ефекти нерідко перевищують вплив самих альдегідів та кетонів. Тому мета розглянутої роботи - з’ясування ролі альдегідів в біохімічних процесах перебігу оксидативного стресу та впливу на ці процеси акцептора альдегідів димедону є актуальною як з науково-теоретичної, так і з практичної точок зору.

Відповідно до мети роботи сформульовано групу практичних завдань, а саме – визначити вплив альдегідів, що можуть утворюватись в організмі – на рівень активних форм кисню та розвитку оксидативного стресу в тимоцитах щурів, зокрема – з застосуванням ферум-індукованої моделі. На моделях гліцерол-стимульованого рабдоміолізу та стрептозотоцин-індукованого діабету визначити роль формальдегіду, гліоксалу, метилгліоксалу та акролеїну за оксидативного стресу та впливу на ці процеси димедону. Подібна деталізація роботи видається обґрунтованою і заперечень не викликає

Дисертація побудована за традиційною схемою і складається зі вступу, огляду літератури (8 підрозділів), методичної частини, результатів та їх обговорення, заключного розділу, висновків та списку використаної

літератури. В літературному огляді на належному науковому рівні висвітлено сучасні відомості щодо взаємозв'язку між оксидативним та карбонільним стресом, відомості щодо ендогенно утворюваних альдегідів та їх властивостей, механізмів антиоксидантного захисту організму, розвитку оксидативного стресу за експериментальних рабдоміолізу та гіперглікемії. Наведено дані щодо акцепторів карбонільних сполук, зокрема – димедону. Як впливає з огляду літератури, автор належним чином ознайомила з сучасним станом наукових знань в досліджуваній галузі. Методична частина повною мірою відповідає меті роботи та поставленим завданням і містить широкий набір сучасних методів препаративної біохімії, ензимології та імуноферментного аналізу, оптичних методів та ЕПР-спектроскопії. Застосування останньої заслуговує особливого схвалення, оскільки не тільки розширює обсяг отримуваної інформації, але й сприяє широкому впровадженню цього інформативного біофізичного методу в біохімічні дослідження. Варто також підкреслити, що в роботі комплексно застосовано дослідження *in vitro* та *in vivo*, що створювало своєрідний інформаційний перехрест і істотно підвищувало вірогідність отриманих результатів. Тобто йдеться про роботу, виконану на високому науково-методичному рівні. Отримані експериментальні дані видаються вірогідними, їх обчислено адекватними статистичними методами, а зроблені на їх підставі висновки повною мірою відповідають отриманим результатам і заперечень не викликають.

Внаслідок проведеного дослідження отримано вагомі наукові дані, що істотно поглиблюють наші уявлення щодо впливу досліджуваних альдегідів на розвиток оксидативного стресу. З іншого боку, вперше встановлено потенційну придатність димедону для блокування *in vivo* карбонільних сполук та зниження зумовлених останніми негативних ефектів. При цьому показано низьку токсичність димедону при застосуванні його в певних концентраціях. Тобто не лише експериментально доведено участь досліджуваних карбонільних сполук в процесах, що призводять до карбонільного та оксидативного стресів, але й запропоновано ефективний підхід до їх нейтралізації. Отже, як з наукової, так і з практичної точок зору результати проведеної роботи знаходяться на належному рівні і заперечень не викликають.

Наукові здобутки дисертаційної роботи опубліковані 15 наукових праць, з них 5 статей в наукових фахових виданнях, захищені патентом України на корисну модель та неодноразово обговорені на вітчизняних та міжнародних наукових з'їздах та конференціях.

Принципових зауважень до роботи немає. Робота відрізняється послідовним та логічним викладенням матеріалу, хоча й містить дрібні недоліки оформлення. Зустрічаються невдалі вирази, повтори та відсутність міжнародних кодів ферментів. Подібні дрібні недоліки оформлення та невдалі вирази можуть бути легко виправлені. Водночас існують зауваження та запитання, на які хотілось би отримати відповідь. Перш за все, навряд чи можна погодитись з думкою автора щодо того, що інтенсифікація

неензиматичного глікозилювання лежить в основі патогенезу певних захворювань. Вірніше було б сказати, що цей процес становить невід'ємну складову відповідних захворювань, оскільки постулювання будь-яких причинно-наслідкових зв'язків у складних комплексах молекулярних порушень, що становлять основу патології, зазвичай носить досить спекулятивний характер. Автор протирічить сама собі, стверджуючи, що основними агентами глікації є редуруючі вуглеводи, і тут же наводячи широкий спектр карбонільних сполук, що утворюються за норми та патології, істотно перевершують ту ж глюкозу за реакційною здатністю та є основними агентами, що зумовлюють формування кінцевих продуктів глікозилювання. При цьому варто зазначити, що у випадку формальдегіду ця реакція в принципі не опосередкована формуванням продуктів Амадори чи якихось вторинних карбонільних груп. Наскільки в такому разі адекватними результати, отримані із застосування динітрофенілгідразину, що реагує саме з останніми? Варто зазначити, що в більшості присвячених дослідженню процесів глікації робіт основної уваги приділено природі та концентрації карбонільних сполук, в той час як не меншій увазі заслуговує структура білкової складової. В останні роки показано, що будь-які конформаційні порушення нативної структури білка ведуть до зростання швидкості глікації з утворенням похідних, котрі сприяють поглибленню денатураційних процесів.

Як видно, наведені зауваження не носять принципового характеру та не знижують наукову та практичну значимість роботи в цілому. Вважаю, що за актуальністю, обсягом і змістом проведених досліджень, науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів дисертаційна робота Токарчук Катерини Олександрівни "Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*" повною мірою відповідає вимогам п.п. 11,12,13 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент – завідувач лабораторії біохімії ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України",  
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Верьовка С.В.

Підпис *Верьовки С.В.*  
ЗАСВІДЧУЮ  
Зав. відділом кадрів *Проф. Н.А. Жасослова*

