

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Журавлевой Юлии Сергеевны
«Механизмы повреждения аминокислоты триптофан в результате радикальных
реакций, фотоиндуцированных кинуреновой кислотой», представленную на
соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.3.17 –
«химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества»

Актуальность темы диссертации

Окислительный стресс, возникающий в следствие увеличения концентрации активных форм кислорода (АФК) и свободных радикалов, имеет важное значение в функционировании живых организмов. Возникающие в результате него повреждения биологически значимых молекул приводят к нарушениям функционирования организма, возникновению различных заболеваний. Одной из основных мишеней для АФК и свободных радикалов являются белки. Особенно важное значение имеют повреждения белков, которые присутствуют в организме на протяжении всей жизни. К таким белкам относятся ряд белков хрусталика глаза. Накопление повреждений данных белков связывают с риском возникновения катаракты. В силу этого, понимание механизмов радикальных повреждений белков хрусталика глаза является актуальной задачей.

В диссертации Журавлевой Ю. С. рассмотрены механизмы повреждения аминокислотных остатков триптофана и тирозина, входящих в состав белков хрусталика, и являющихся наиболее подверженными окислительным повреждениям. Рассматриваются фотоиндуцированные реакции в присутствии природного фотосенсибилизатора – кинуреновой кислоты. Изучение механизма радикальных повреждений аминокислотных остатков в данных модельных реакциях позволяет заложить фундаментальную основу для понимания механизмов радикальных повреждений белков в организме.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Журавлевой Юлии Сергеевны состоит из введения, обзора литературы, описания экспериментальной части, пяти глав содержащих результаты и их обсуждение, основных результатов и выводов, списка используемой литературы и приложения. Работа выполнена в объеме 189 страниц печатного текста и 68 рисунков (30 в основном тексте и 38 в приложении). Библиография включает 280 наименований.

Во введении представлена актуальность темы исследования и степень её разработанности, поставлена цель работы и описаны основные задачи, описана новизна и практическая значимость работы, методология и методы исследования, степень достоверности и апробация результатов, перечислены публикации по теме диссертации, а также сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе сделан очень обширный обзор литературы, посвященной механизмам радикальных реакций с участием триптофана и тирозина под действием УФ излучения, возможным продуктам этих радикальных реакций с участием как свободных аминокислот, так и аминокислот в составе белков и тканей, а также образованию оксигенированных форм аминокислотных остатков. Также приводятся описанные в литературе данные о роли радикальных реакций и АФК в повреждениях белков хрусталика глаза и дальнейшем развитии глазных заболеваний и делается обзор фотохимических свойств кинуренинов, выступающих в роли фотосенсибилизаторов в диссертационной работе. Основной упор в литературном обзоре делается на механизмах фотоиндуцированных реакций с участием триптофана, который является основным объектом исследования в диссертации. Следует отметить, что литературный обзор написан достаточно подробно, ясным языком, и закладывает очень хорошую основу для дальнейшего понимания полученных в работе результатов.

Во второй главе приведены методы исследования (оптическая спектроскопия, лазерный импульсный фотолиз, стационарный фотолиз, высокоэффективная жидкостная хроматография с оптическим детектированием, масс-спектрометрия, гель-электрофорез), описаны экспериментальные детали, процедура расчета квантовых выходов фоторазложения исходных соединений.

В третьей главе приведены результаты исследования механизма реакции между триплетным состоянием кинуреновой кислоты и триптофаном. Реакция может протекать по механизму переноса электрона или механизму последовательного переноса электрона и протона либо атома водорода. Судить о механизме реакции можно по образующимся продуктам – протонированному либо нейтральному радикалу триптофана, однако их детектирование оптическими методами затруднено ввиду сильного перекрытия спектров поглощения со спектром радикала кинуреновой кислоты. Так как молекулярный кислород может быстро удалять радикалы кинуреновой кислоты из раствора, выводы о механизме реакции делались при использовании аэробной среды. Вывод о протекании реакции по механизму последовательного переноса электрона и протона был сделан на основании кинетики установления равновесия при образовании продуктов в средах с различными значениями pH.

Четвертая глава посвящена характеристике влияния pH на механизм и продукты фотоиндуцированных реакций между кинуреновой кислотой и аминокислотами триптофан и тирозин, а также некоторыми их производными. Показано, что протонирование радикала кинуреновой кислоты не влияет на его реакционную способность по отношению к триптофану, однако возрастает эффективность окисления радикалов кинуреновой кислоты молекулярным кислородом. Кроме того, показано влияние pH среды на скорость обратного переноса электрона.

В пятой главе описано влияние pH на механизмы и продукты фотоиндуцированных реакций между кинуреновой кислотой и остатками триптофана и тирозина в составе лизоцима. В данной главе показано, что белковая глобула существенно влияет на протекание радикальных реакций между кинуреновой кислотой и аминокислотными остатками тирозина и триптофана. Обнаружено, что в отличие от случая свободных аминокислот, pH среды не влияет на скорость обратного переноса электрона, однако существенно влияет на соотношение между образующимися продуктами межмолекулярной димеризации и внутримолекулярных модификаций. Данные результаты являются шагом от механизмов модельных реакций свободных аминокислот к пониманию реакций, протекающих в более сложных белковых глобулах.

Шестая глава посвящена исследованию реакции диспропорционирования кинуреновой кислоты под действием УФ излучения. Данная реакция может являться источником радикалов KNA^{\cdot} , которые, в свою очередь, могут приводить к образованию зарегистрированного в работе продукта сшивки кинуреновой кислоты и триптофана. Реакции, приводящие к образованию данного радикала, ранее не были описаны.

В седьмой главе обсуждаются механизм и продукты реакции между радикалом триптофана и супероксид анионом. Генерация супероксид аниона происходила при фотоллизе с участием кинуреновой кислоты в качестве фотосенсибилизатора. На основании характера кинетических зависимостей исследуемых процессов была предложена схема фотоиндуцированных реакций с участием кислорода, определены константы скорости реакций, а также оценен выход продуктов триптофана в реакции его радикала с супероксид анионом.

Научная новизна работы состоит в установлении ранее неизвестного механизма реакции между триплетным состоянием кинуреновой кислоты и триптофаном, посредством последовательного переноса электрона и протона, при котором протон переносится непосредственно к триплетному состоянию фотосенсибилизатора. Также впервые был установлен механизм влияния pH на кинетику радикальных реакций

триптофана. Кроме того, обнаружено существование не описанной ранее реакции диспропорционирования для кинуреновой кислоты. Впервые был исследован механизм реакции между радикалом триптофана и супероксид анионом с использованием регистрации кинетики основного состояния триптофана.

Практическую значимость работы составляет совокупный объем полученных экспериментальных данных о механизмах реакций, влиянии условий среды и образующихся продуктах, наблюдаемых в фотопроцессах с участием триптофана.

Достоверность выполненных автором исследований не вызывает сомнений.

Содержание диссертации полно отражено в публикациях автора: по теме диссертации опубликованы 4 статьи в высокорейтинговых журналах по профилю исследования и 5 тезисах докладов. Основные результаты многократно апробированы на международных и всероссийских конференциях.

Диссертация написана ясным языком, с использованием принятой терминологии, оформление диссертации замечаний не вызывает.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации и отражает ее содержание.

По содержанию диссертации имеются следующие **замечания и предложения**:

1. В литературном обзоре обсуждается роль кинуреновой кислоты в организме, её фотохимические свойства, упоминается что она также содержится в хрусталике глаза человека в концентрациях 0.4-0.6 мМ. Однако для лучшего понимания, хорошо было бы привести эти концентрации в сравнении с примерным содержанием триптофана в хрусталике
2. Оценка ферментативной активности лизоцима проводилась методом турбодиметрии, по светорассеянию. Данный метод является недостаточно точным, и было бы желательно подтвердить полученные результаты более точным количественным методом
3. Полученные данные о влиянии рН среды на механизмы фотоиндуцированных процессов дают фундаментальное представление о механизмах фотоиндуцированных реакций с участием триптофана, однако возникает вопрос о физиологической роли низких значений рН (~3) в реальных живых системах.

При этом высказанные замечания носят частный характер и не влияют на основное содержание диссертационного исследования, достоверность его результатов и выводов.

Диссертационная работа Ю. С. Журавлевой выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне с применением современных физико-химических методов, обеспечивающих выполненному исследованию надежность и достоверность.

Заключение

В работе поставлены и решены актуальные научные задачи и получены новые оригинальные результаты. Содержание работы и сформулированные в ней выводы позволяют утверждать, что цели исследования достигнуты, а поставленные в диссертации задачи успешно решены. Рецензируемая диссертационная работа представляет собой завершенное научное исследование. Собственные оригинальные научные результаты не противоречат известным литературным данным и результатам, полученными другими авторами, что обуславливает достоверность выводов работы. Диссертационная работа выполнена на хорошем научно-техническом уровне с использованием современных физико-химических методов.

Считаю, что диссертационная работа Юлии Сергеевны Журавлевой «*Механизмы повреждения аминокислоты триптофан в результате радикальных реакций, фотоиндуцированных кинуреновой кислотой*» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в текущей редакции), а ее автор Журавлева Юлия Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Официальный оппонент Селютина Ольга Юрьевна

кандидат физико-математических наук (специальность 01.04.17—Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества),

старший научный сотрудник Лаборатории магнитных явлений, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

Адрес: 630090, Новосибирск, Институтская ул., 3
Телефон: +7(923)1458067
Электронная почта: olga.gluschenko@gmail.com

18.10.2024 г.

Селютина О. Ю.

