

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Рязанский  
государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, доктор медицинских наук,  
профессор И.П. Калинин Роман Евгеньевич  
«06» \_\_\_\_\_ 2017 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Рязанский государственный медицинский университет имени  
академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» выполнена на кафедре биологической химии с курсом КЛД ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Ильичева Анна Сергеевна являлась соискателем кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2003 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации» по специальности «медико-профилактическое дело».

Справка об обучении и сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 году федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: Фомина Мария Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский

государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО.

По итогам обсуждения диссертации Ильичевой Анны Сергеевны «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» принято следующее заключение:

#### **Актуальность темы исследования**

Повышенная концентрация гомоцистеина в сыворотке крови была установлена в качестве одного из провокаторов избыточной продукции свободных радикалов и, как следствие, развития оксидативного стресса. При этом окислительная модификация белков считается одним из наиболее ранних и стабильных проявлений поражения различных тканей организма. Одним из важнейших путей выведения и удаления модифицированных белков является протеолиз, недостаточность которого ведет к их накоплению в клетке и внеклеточном пространстве. В этом аспекте интерес вызывают лизосомальные цистеиновые протеиназы (катепсины) в силу их способности секретироваться во внеклеточное пространство, взаимодействовать с различными белками, в том числе и окисленными.

#### **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Все результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно или при его непосредственном участии. Постановка задач, оценка полученных результатов проводились совместно с научным руководителем и другими соавторами публикаций.

Автором были исследованы 240 гомогенатов мышечных тканей 80-ти половозрелых крыс самцов линии Wistar. Были получены статистически значимые изменения активности катепсинов L и H, продуктов окислительной модификации белков при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности и при введении на фоне выраженной гипергомоцистеинемии аргинина и карнитина.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации позволяют считать их законными цитатами.

#### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне с использованием непараметрических методов статистики: критерии Шапиро-Уилка (W-критерий), Манна-Уитни (U-тест), Краскелла-Уоллиса, коэффициент Спирмена. В работе использованы современные методики (иммуноферментный анализ, спектрофлуориметрия, спектрофотометрия) адекватные цели и задачам исследования.

Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований со статистической обработкой результатов с помощью программ «Microsoft Office Excel 2010» и «Statistica

10.0»

Достоверность первичных материалов подтверждена их экспертной оценкой и не вызывает сомнений. Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

#### **Новизна результатов проведенных исследований**

Впервые произведена комплексная оценка содержания карбонилированных производных белков в мышечных тканях при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности и при введении на этом фоне карнитина и L – аргинина. Впервые описано состояние активности лизосомальных цистеиновых протеиназ мышечных тканей при изучаемых состояниях. Выявлено усиление активности системы лизосомального цистеинового протеолиза, сопровождающееся дестабилизацией мембран лизосом в скелетной мышце и миокарде при умеренной, в сердечной и гладкомышечной мускулатуре при выраженной гипергомоцистеинемии.

#### **Практическая значимость результатов проведенных исследований**

Снижение интенсивности процессов окислительной модификации белков в гладкомышечной ткани грудной аорты и скелетной мышцы под влиянием аргинина и карнитина, а также уменьшение активности катепсинов L, H, снижение проницаемости лизосомальных мембран грудной аорты и миокарда, может позволить использовать данные вещества для коррекции негативных последствий окислительного стресса или его профилактики в мышечных тканях.

#### **Ценность научных работ соискателя**

Обнаруженные изменения активности лизосомальных цистеиновых протеиназ, а также продукции окислительно-модифицированных белков в мышечных тканях при экспериментально смоделированной гипергомоцистеинемии дополняют представления о механизмах формирования оксидативного стресса, лежащего в основе различных острых и хронических заболеваний.

#### **Специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертация посвящена исследованию активности катепсинов L и H, окислительной модификации при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности.

Она соответствует паспорту специальности 03.01.04 - биохимия.

#### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, полно отражающих основные положения диссертации, в том числе 4 статьи в

журналах перечня ВАК Минобрнауки России.

1. Ильичева, А.С. Оценка активности катепсинов L, H и степени их секреции в сердечной мышце при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Фундаментальные исследования*. – 2014. - №10. - С.1725-1728.
2. Ильичева, А.С. Состояние окислительного карбонилирования белков мышечных тканей при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. - 2015, №1. - С.45-51.
3. Ильичева, А.С. Влияние L-аргинина и карнитина на активность катепсиновL, Ni проницаемость лизосомальной мембраны в сердечной мышце при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Казанский медицинский журнал*. – 2015. - №5, Т.ХСVI. - С. 819-824.
4. Ильичева, А.С. Оценка корректирующего воздействия аргинина и карнитина на активность и распределение катепсинов L, H скелетной и гладкой мышц при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина, С.А. Исаков // *Пермский медицинский журнал*. – 2016. – Т. 33, № 2. - С.82-89.

Диссертация «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» Ильичевой Анны Сергеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия (медицинские науки).

Заключение принято на заседании кафедр биологической химии с курсом КЛД ФДПО, нормальной физиологии с курсом психофизиологии, фармакологии с курсом фармации ФДПО, профильных гигиенических дисциплин с курсом гигиены, эпидемиологии и организации госсанэпидслужбы ФДПО, факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Присутствовало на заседании 14 человек профессорско-преподавательского состава. Результаты голосования: «за» - 14 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет (протокол № 1 от 13 февраля 2017 г.).



Сучков Игорь Александрович,  
д.м.н., доцент, проректор  
по научной работе и  
инновационному развитию  
ФГБОУ ВО РязГМУ  
Минздрава России

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Рязанский  
государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, доктор медицинских наук,  
профессор Калинин Роман Евгеньевич  
«06» \_\_\_\_\_ 2017 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Рязанский государственный медицинский университет имени  
академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» выполнена на кафедре биологической химии с курсом КЛД ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Ильичева Анна Сергеевна являлась соискателем кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2003 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации» по специальности «медико-профилактическое дело».

Справка об обучении и сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 году федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: Фомина Мария Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский

государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО.

По итогам обсуждения диссертации Ильичевой Анны Сергеевны «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» принято следующее заключение:

#### **Актуальность темы исследования**

Повышенная концентрация гомоцистеина в сыворотке крови была установлена в качестве одного из провокаторов избыточной продукции свободных радикалов и, как следствие, развития оксидативного стресса. При этом окислительная модификация белков считается одним из наиболее ранних и стабильных проявлений поражения различных тканей организма. Одним из важнейших путей выведения и удаления модифицированных белков является протеолиз, недостаточность которого ведет к их накоплению в клетке и внеклеточном пространстве. В этом аспекте интерес вызывают лизосомальные цистеиновые протеиназы (катепсины) в силу их способности секретироваться во внеклеточное пространство, взаимодействовать с различными белками, в том числе и окисленными.

#### **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Все результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно или при его непосредственном участии. Постановка задач, оценка полученных результатов проводилась совместно с научным руководителем и другими соавторами публикаций.

Автором были исследованы 240 гомогенатов мышечных тканей 80-ти половозрелых крыс самцов линии Wistar. Были получены статистически значимые изменения активности катепсинов L и H, продуктов окислительной модификации белков при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности и при введении на фоне выраженной гипергомоцистеинемии аргинина и карнитина.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации позволяют считать их законными цитатами.

#### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне с использованием непараметрических методов статистики: критерии Шапиро-Уилка (W-критерий), Манна-Уитни (U-тест), Краскелла-Уоллиса, коэффициент Спирмена. В работе использованы современные методики (иммуноферментный анализ, спектрофлуориметрия, спектрофотометрия) адекватные цели и задачам исследования.

Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований со статистической обработкой результатов с помощью программ «Microsoft Office Excel 2010» и «Statistica

10.0»

Достоверность первичных материалов подтверждена их экспертной оценкой и не вызывает сомнений. Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

#### **Новизна результатов проведенных исследований**

Впервые произведена комплексная оценка содержания карбонилированных производных белков в мышечных тканях при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности и при введении на этом фоне карнитина и L – аргинина. Впервые описано состояние активности лизосомальных цистеиновых протеиназ мышечных тканей при изучаемых состояниях. Выявлено усиление активности системы лизосомального цистеинового протеолиза, сопровождающееся дестабилизацией мембран лизосом в скелетной мышце и миокарде при умеренной, в сердечной и гладкомышечной мускулатуре при выраженной гипергомоцистеинемии.

#### **Практическая значимость результатов проведенных исследований**

Снижение интенсивности процессов окислительной модификации белков в гладкомышечной ткани грудной аорты и скелетной мышцы под влиянием аргинина и карнитина, а также уменьшение активности катепсинов L, H, снижение проницаемости лизосомальных мембран грудной аорты и миокарда, может позволить использовать данные вещества для коррекции негативных последствий окислительного стресса или его профилактики в мышечных тканях.

#### **Ценность научных работ соискателя**

Обнаруженные изменения активности лизосомальных цистеиновых протеиназ, а также продукции окислительно-модифицированных белков в мышечных тканях при экспериментально смоделированной гипергомоцистеинемии дополняют представления о механизмах формирования оксидативного стресса, лежащего в основе различных острых и хронических заболеваний.

#### **Специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертация посвящена исследованию активности катепсинов L и H, окислительной модификации при гипергомоцистеинемии различной степени выраженности.

Она соответствует паспорту специальности 03.01.04 - биохимия.

#### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, полно отражающих основные положения диссертации, в том числе 4 статьи в

журналах перечня ВАК Минобрнауки России.

1. Ильичева, А.С. Оценка активности катепсинов L, H и степени их секреции в сердечной мышце при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Фундаментальные исследования*. – 2014. - №10. - С.1725-1728.
2. Ильичева, А.С. Состояние окислительного карбонилирования белков мышечных тканей при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. - 2015, №1. - С.45-51.
3. Ильичева, А.С. Влияние L-аргинина и карнитина на активность катепсинов L, H и проницаемость лизосомальной мембраны в сердечной мышце при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // *Казанский медицинский журнал*. – 2015. - №5, Т.XCVI. - С. 819-824.
4. Ильичева, А.С. Оценка корректирующего воздействия аргинина и карнитина на активность и распределение катепсинов L, H скелетной и гладкой мышц при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина, С.А. Исаков // *Пермский медицинский журнал*. – 2016. – Т. 33, № 2. - С.82-89.

Диссертация «Влияние гипергомоцистеинемии на окислительную модификацию белков и активность катепсинов L и H мышечных тканей» Ильичевой Анны Сергеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия (медицинские науки).

Заключение принято на заседании кафедр биологической химии с курсом КЛД ФДПО, нормальной физиологии с курсом психофизиологии, фармакологии с курсом фармации ФДПО, профильных гигиенических дисциплин с курсом гигиены, эпидемиологии и организации госсанэпидслужбы ФДПО, факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Присутствовало на заседании 14 человек профессорско-преподавательского состава. Результаты голосования: «за» - 14 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет (протокол № 1 от 13 февраля 2017 г.).



Сучков Игорь Александрович,  
д.м.н., доцент, проректор  
по научной работе и  
инновационному развитию  
ФГБОУ ВО РязГМУ  
Минздрава России