

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию Толмачевой Анны Сергеевны  
«Оксидоредуктазные активности иммуноглобулинов класса G человека»,  
представленную к защите в диссертационный совет ИХБФМ.03.01 на базе ФГБУН

**ИХБФМ СО РАН**

на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.4 - биохимия

### **Актуальность темы диссертационной работы**

В настоящее время окислительные повреждения клеток, возникающие при гиперпродукции активированных кислородных метаболитов, не только считаются важным фактором канцерогенеза и процесса старения, но также ассоциируются с развитием аутоиммунных, нейродегенеративных и сосудистых нарушений. В связи с этим, изучение молекулярных механизмов предотвращения состояния окислительного стресса является крайне важной задачей, поскольку позволяет лучше понять причины появления и развития этого нежелательного состояния, а также разработать подходы для предотвращения критического уровня активированных кислородных метаболитов в организме.

Известно, что кроме классических антиоксидантов ферментативной и неферментативной природы, существуют иммуноглобулины, обладающие оксидоредуктазными активностями. Такие абзимы были обнаружены в крови животных и человека. Однако, для человеческих абзимов с оксидоредуктазной активностью не было приведено строгое доказательство принадлежности этой активности непосредственно к иммуноглобулинам, а, главное, не было проведено детальное изучение их ферментативных свойств и субстратной специфичности.

В связи с этим, тема диссертационной работы Толмачевой Анны Сергеевны, посвященной изучению оксидоредуктазной активности иммуноглобулинов человека в норме и при аутоиммунной патологии, несомненно является актуальной.

**Научная новизна исследования и практическая значимость полученных результатов**

В представленной работе впервые проведено исследование пероксидазной и пероксид-независимой оксидоредуктазной активности иммуноглобулинов в крови здоровых доноров и пациентов с системной красной волчанкой и рассеянным склерозом. Впервые доказано, что эти активности являются функцией Fab- и F(ab)<sub>2</sub>-фрагментов иммуноглобулинов человека. Впервые исследована зависимость абзимов с оксидоредуктазной активностью от ионов различных металлов; впервые показана широкая субстратная специфичность абзимов с оксидоредуктазной активностью, выделенных из крови человека. Данные о различии уровня и субстратной специфичности абзимов с оксидоредуктазной активностью в крови здоровых доноров и пациентов с аутоиммунными заболеваниями могут, после дополнительных исследований, быть использованы для более точного определения статуса больных, что, в свою очередь, улучшит персонализированный подход к лечению пациентов с аутоиммунными заболеваниями.

#### **Достоверность полученных результатов, степень обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы**

Достоверность полученных результатов определяется объёмом экспериментальных данных по обнаружению и анализу оксидоредуктазная активности каталитических природных иммуноглобулинов класса G. Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных биохимических и иммунологических методов исследования.

#### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертация Толмачевой А.С. изложена на 158 страницах, включая список использованной литературы (27 стр.) и Приложение (6 стр.).

Диссертация написана в традиционном стиле и включает следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и их обсуждение, Заключение, Выводы и Список использованной литературы, который содержит библиографические данные о 289 публикациях отечественных и зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 52 рисунками, десятью схемами и девятью таблицами (плюс шесть дополнительных таблиц в Приложении).

Введение содержит все необходимые разделы: «Актуальность исследования», «Цель и задачи работы», «Научная новизна и практическая

значимость работы», «Положения, выносимые на защиту», «Апробация работы и публикации», «Вклад автора». Все разделы написаны корректно и соответствуют тому, что изложено в основных главах диссертации.

Глава «Обзор литературы» включает два больших раздела, один из которых назван «Активированные кислородные метаболиты и ферментативная система их детоксификации» и посвящен описанию кислородных метаболитов, их химии и природным антиоксидантам (ферментативным и неферментативным). Второй раздел обзора назван «Каталитические активные антитела» и, в традиционной манере, посвящен истории их открытия, описанию многообразия катализируемых абзимами реакций, возможным механизмам их возникновения в организме и возможной биологической роли. Также этот раздел содержит имеющуюся информацию о природных и созданных экспериментально антителах с антиредуктазными свойствами. Таким образом, в обзоре литературы собраны достаточно полные данные об объекте исследования, что позволяет оценить вклад соискателя в развитие данной тематики. Важно, что в конце обзора имеется заключение объясняющее постановку цели диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы» приведено четкое описание биохимических и иммунологических методов, использованных соискателем в работе. Также в этой главе дано описание выборки использованных образцов крови.

В главе «Результаты и их обсуждение» последовательно представлен ход работы по выделению фракций сывороточных IgG из крови пациентов с системной красной волчанкой и рассеянным склерозом и здоровых доноров, анализу выделенных фракций на наличие пероксидазной и пероксид-независимой оксидоредуктазной активности и ее особенностей, доказательству принадлежности указанных активностей именно иммуноглобулинам. Большое внимание уделено соискателем исследованию влияния ионов различных металлов на пероксидазную и пероксид-независимую оксидоредуктазную активность сывороточных IgG. Эти исследования проведены с использованием IgG из крови как модельных животных (крыс линии Wistar), так и людей – здоровых доноров и пациентов с аутоиммунными патологиями. При этом было обнаружено, что IgG-абзимы с оксидоредуктазной активностью, выделенные из крови человека и крыс, различаются. У последних отсутствуют абзимы с металл-независимой

пероксидазной и пероксид-независимой оксидоредуктазной активностью. Также было показано, что пероксидазная и пероксид-независимая оксидоредуктазная активности IgG из крови здоровых доноров по субстратной специфичности и по уровню отличаются (в ряде случаев статистически достоверно) от таковых для пациентов с системной красной волчанкой и рассеянным склерозом.

Все разделы в главе «Результаты и их обсуждение» содержат анализ полученных результатов в контексте известных данных; в конце разделов имеются заключения.

В главе «Заключение», довольно краткой, суммированы полученные автором результаты, а также вытекающая из них значимость результатов. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Выводы четко сформулированы и обоснованы.

Автореферат адекватно отражает основные результаты диссертационной работы. По теме диссертации опубликованы пять статей в научных журналах, все с первым авторством соискателя. Также результаты представлялись на российских конференциях.

Диссертация написана ясно и логично, хорошим научным языком; она аккуратно оформлена, содержит все необходимые рисунки и таблицы, иллюстрирующие полученные результаты.

#### **Замечания к диссертационной работе**

Замечания к данной работе имеют дискуссионный или технический характер.

1. Хотелось бы увидеть рассуждения соискателя о причине разницы в наличии и отсутствии иммуноглобулинов с металл-независимой пероксидазной и пероксид-независимой оксидоредуктазной активностью у человека и крыс, соответственно.
2. Обращает внимание поразительное сходство, в основном дословное, положений, выносимых на защиту, и выводов.

Технические замечания.

3. В обзоре литературы соискатель два раза описывает результаты одного и того же исследования [Smirnova et al., 2020] супероксиддисмутазной активности IgG у здоровых людей и пациентов с рассеянным склерозом (на стр. 42 и стр. 43).

4. В разделе «Материалы и методы» не приведены параметры хроматографической колонки или сорбента с иммобилизованными мышинными моноклональными антителами к легким цепям IgG человека, хотя в разделе «Результаты и их обсуждение» описаны эксперименты с использованием такого сорбента.

5. В подписях к рисункам, содержащим электрофореграммы, следует приводить параметры маркеров молекулярных масс (производитель, каталожный номер).

Следует повторить, что приведенные замечания являются дискуссионными или техническими и не снижают научной ценности представленной диссертации.

Научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, обоснованы объемом проведенных исследований, корректными методическими подходами и использованием современных методов исследования. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы логично вытекают из полученных результатов. Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов не вызывают сомнений.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Толмачевой Анны Сергеевны «Оксидоредуктазные активности иммуноглобулинов класса G человека», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия является завершённой квалификационной научно-исследовательской работой, в которой с помощью современных биохимических и иммунологических методов решена важная научная задача – детально исследованы пероксидазная и пероксид-независимая оксидоредуктазная активности каталитических природных иммуноглобулинов класса G здоровых людей и пациентов с аутоиммунными заболеваниями.

Актуальность поставленных и решенных в ходе диссертационной работы задач, большой объем и качество проведенных научных исследований, новизна и высокая научная значимость полученных результатов, а также обоснованность приводимых выводов позволяют заключить, что представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям, установленным Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Содержание

диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.4 – биохимия, а также критериям, определенным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор диссертации, Толмачева Анна Сергеевна, несомненно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия».

Зав. лабораторией молекулярной микробиологии  
ИХБФМ СО РАН  
д.б.н., доцент



Тикунова Н.В.

Подпись Н.В. Тикуновой заверяю.  
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН  
к.х.н.



Пестряков П.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН),  
Новосибирск, 630090, пр-т академика Лаврентьева, д.8.  
Тел. +7(383)363-51-50; e-mail: [niboch@niboch.nsc.ru](mailto:niboch@niboch.nsc.ru); [www.niboch.nsc.ru](http://www.niboch.nsc.ru)