

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

главного научного сотрудника лаборатории аналитической химии и методов
разделения ФГБУН Института общей и неорганической химии им. Н.С.
Курнакова РАН. Шпигун Лилии Константиновны

о диссертации Варзаковой Дарьи Павловны
на тему «Неинвазивные электрохимические методы
оценки антиоксидант/оксидантной активности биологических объектов»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.2 аналитическая химия

Актуальность темы диссертационного исследования. Пристальный интерес ученых к процессам свободнорадикального окисления и формированию липидной пероксидации в организме не ослабевает на протяжении нескольких десятилетий. В настоящее время усилия исследователей направлены на выявление специфических маркеров окислительного стресса как дисбаланса между антиоксидантами и клеточными про-оксидантами, а также на поиск наиболее информативного биологического материала, который может быть использован для изучения свободнорадикальных процессов в нашем организме (плазма и сыворотка крови, другие биологические жидкости и клеточные элементы). Ведутся исследования как по определению уровня отдельных ферментов-антиоксидантов, витаминов-антиоксидантов, микроэлементов, так и по оценке величины общей антиоксидантной активности (АОА) как показателя многоуровневой системы антиоксидантной защиты организма. В связи с этим, разработка и применение эффективных методов определения АОА была и остается одной из актуальных задач современной аналитической химии, медицины, косметологии и фармакологии. Особенно перспективными представляются электрохимические методы, которые не требуют дорогостоящего измерительного оборудования, но при этом позволяют напрямую оценить антиоксидант/оксидантный баланс организма. Важнейший вклад в развитие этого направления внесли работы, выполненные под

Вх. № 05-19/1-54/
от 03.12.2021г

руководством доктора химических наук, профессора Хьены Залмановны Брайниной.

Диссертационная работа Варзаковой Дарьи Павловны посвящена решению задач, связанных с разработкой и использованием рациональных электрохимических способов оценки антиоксидантных свойств и окислительной способности различных биологических объектов (плазмы крови, слюны, семенной жидкости, кожи человека). Актуальность выполненного исследования отвечает научным интересам как в области создания унифицированных методов оценки антиоксидантной активности биологических объектов, так и в сфере изучения антиоксидантного статуса пациента перед назначением «антиоксидантной» терапии.

Научная новизна и практическая значимость диссертационного исследования. Диссертация Д.П. Варзаковой отличается научной новизной не только потому, что автором предложен оригинальный хроноамперометрический способ оценки антиоксидантных свойств биообъектов с предшествующей реакцией антиоксидантов с $K_3[Fe(CN)_6]$, адаптированный к условиям клиничко-лабораторного анализа, но и благодаря тому, что здесь представлены и проанализированы новые данные по исследованию процессов, происходящих при взаимодействии квазиобратимой редокс-системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ с низкомолекулярными антиоксидантами и оксидантами, присутствующими в биологической пробе. Важным элементом новизны является также развитие подходов, основанных на использовании потенциометрического контроля указанной редокс-системы, к исследованию антиоксидантного статуса семенной жидкости у мужчин и изучению действия косметических кремов и потребляемых напитков на кожу.

Научно-практический интерес представляют следующие результаты работы Д.П. Варзаковой:

- методика определения АОА слюны хроноамперометрическим методом, не требующая пробоподготовки;
- методика потенциометрического определения оценки антиоксидантного статуса семенной жидкости и ее использование в диагностических целях для выявления патологии репродуктивной функции мужчин (свидетельство об аттестации № 222.0067/01.00258/2014 выдано ФГУП «УНИИМ»);
- методика потенциометрической оценки антиоксидантных свойств кожи для оптимизации состава и технологии получения косметических и пищевых продуктов с антиоксидантными свойствами для конкретной возрастной категории потребителей.

Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования. Разработанные методики и алгоритмы представляются полезными для использования в интерфейсах новых потенциометрических анализаторов:

- «Антиоксидант», предназначенном для определения АОА/ОА растворов;
- «ПА-S», предназначенный для определения АОА/ОА кожи.

Это информация представляется полезной при оценке состояния здоровья человека и эффективности «антирадикальной» терапии.

Достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, обеспечивается его методологией и основывается на достаточных по объему экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов анализа, а также на их метрологической оценке, проведенной службой аттестации и сертификации (ФГУП «Уральский научно-исследовательский институт метрологии»).

Общая оценка содержания диссертационной работы

Содержание диссертационной работы Д.П. Варзаковой соответствует специальности 1.4.2 – аналитическая химия, по которой она представляется к защите, что подтверждается апробацией работы, ее научной новизной и практической значимостью. Структура диссертации полностью соответствует предмету исследования.

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), собственных результатов и их обсуждения (главы 3–6), заключения, списка литературы и приложения. Работа изложена на 129 страницах машинописного текста, содержит 42 рисунка и 20 таблиц. Библиографический указатель включает 178 ссылок на отечественные и зарубежные работы. Во введении представлена общая информация по диссертации, в частности обоснована актуальность темы работы, указаны цель и задачи исследования, его теоретическая и практическая значимость, изложены положения, выносимые на защиту. В главе 1 рассмотрены общая картина окислительного стресса и его роль в патогенезе ряда заболеваний, а также обсуждены система антиоксидантной защиты организма и методы оценки антиоксидантных свойств различных биологических объектов, которые нашли наиболее широкое применение и описаны в литературе. На основе анализа литературных данных сформулированы цель и задачи настоящего исследования. В главе 2 описаны используемые в работе реактивы, аппаратуры, объекты и методы исследования. В главе 3 представлены результаты разработки хроноамперометрического способа количественной оценки антиоксидантной активности индивидуальных низкомолекулярных соединений и общей АОА биологических проб на основе жидкофазной реакции восстановления $K_3[Fe(CN)_6]$ с последующей регистрацией тока окисления продукта реакции с помощью толстопленочного платинового

электрода. С помощью модельных антиоксидантов оптимизированы условия измерений. Показаны возможности анализа образцов плазмы крови. Адаптация предложенного подхода к исследованию антиоксидантных свойств слюны детально описана в главе 4. Достоверность результатов анализа подтверждена сопоставлением с данными, полученными потенциометрическим методом на основе квазиобратимой редокс-системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$. Главы 5 и 6 посвящены описанию результатов использования указанной системы для исследования редокс-свойств семенной жидкости пациентов с нормоспермией и патоспермией в условиях *in vitro*, а также антиоксидантной активности кожи. В обоих случаях источником информации служит сдвиг потенциала индикаторного электрода, обусловленный изменением соотношения компонентов медиаторной системы в присутствии исследуемого образца. Важно отметить, что предложенные методики успешно апробированы на выборке реальных образцов и рекомендованы к практическому использованию. Безусловно, это является существенным достижением работы в области оценки функционального состояния антиоксидантного статуса организма человека.

Замечания по работе. При ознакомлении с представленной диссертацией, которую я прочла с большим интересом, у меня возникли следующие вопросы и замечания:

1. в диссертации представлен литературный обзор, существенный для понимания проблемы в целом. Однако в нем излишне много внимания уделяется рассмотрению вопросов окислительного стресса и его роли в патогенезе ряда заболеваний. Целесообразно было бы частично сократить соответствующий раздел 1.3 и объединить его с разделом 1.4. Кроме того, обращает на себя внимание незначительное число цитирований работ последних пяти лет;

2. на мой взгляд, не вполне корректно обозначить предложенный автором хроноамперометрический метод как «гибридный». В современной литературе гибридный метод – это способ анализа, основанный на сочетании приемов разделения (концентрирования) и определения; в тексте диссертации встречаются и другие неудачные термины, в частности термин «gesovergu» в отечественной литературе означает показатель правильности – степень близости среднего значения к истинному, а не степень извлечения;

3. чем можно объяснить тот факт, что, в отдельных случаях, при статистической оценке результатов измерений, доверительный интервал не покрывает оцениваемый параметр (например, см. табл.3.5 и 4.3). В связи с этим, было бы хорошо представить в работе циклические вольтамперограммы как отдельных низкомолекулярных антиоксидантов, так и изученных биологических объектов в условиях эксперимента;

4. универсального критерия в оценке АОА биологических объектов до сих пор не существует. Автор в качестве такого критерия использует концентрацию антиоксидантов, выраженную в мМ-экв. Между тем, проще и информативнее было бы выразить эту величину в относительных единицах. Чаще всего, для этой цели используют такой интегральный показатель как тролокс-эквивалент (ТЕАС) – концентрацию раствора тролокса – водорастворимого аналога витамина Е (в мМ), соответствующую антиоксидантному действию исследуемого образца. Кроме того, в случае оценки редокс-свойств семенной жидкости можно было бы рассчитать степень оксидантной или антиоксидантной активности – отношение разности потенциалов до и после добавления образца к начальному значению потенциала (в %).

Все указанные замечания не снижают научно-практической ценности проведенных исследований. Работа прошла широкую апробацию на ведущих отечественных и международных конференциях. По полученным

результатам опубликованы четыре статьи в международных высокорейтинговых журналах баз Scopus и Web of Science, а также девять тезисов докладов. Автореферат диссертации в должной мере отражают основное содержание работы.

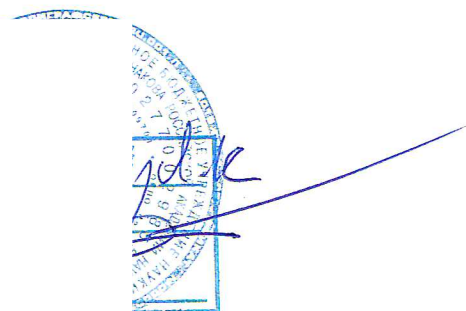
Общее заключение по диссертации. Резюмируя всё вышесказанное, можно заключить, что диссертация Д.П. Варзаковой «Неинвазивные электрохимические методы оценки антиоксидант/оксидантной активности биологических объектов» является завершённой научно-квалификационной работой, которая по поставленным задачам, уровню их решения и научно-практической новизне полученных результатов в области аналитической химии антиоксидантов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 Положения о присуждении ученых степеней УрФУ, предъявляемым к кандидатским диссертациям), а ее автор – Дарья Павловна Варзакова заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – аналитическая химия.

Шпигун Лилия Константиновна,



доктор химических наук, профессор по специальности 02-00-02 – аналитическая химия, главный научный сотрудник ФГБУН Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН.
Почтовый адрес: Москва 119991, Ленинский проспект, 31.
Тел.: +7(495)952-14-29;
e-mail: shpigun@igic.ras.ru.

Подпись
УДОСТОВ
Зав. прото
отд. ИОНХ



23 ноября 2021 г.