

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации **Шмурака Владимира Игоревича**
«Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного
альбумина человека, быка и крысы»,
представленной на соискание учёной степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Известно, что сывороточный альбумин связывает и транспортирует самые разные эндогенные и экзогенные соединения, во многом определяя естественный метаболизм, а также фармако- и токсикокинетику лекарств и токсических веществ. В то же время, очень мало известно о ферментативной активности альбумина, практически ничего не известно о межвидовых отличиях, хотя эти особенности, если они существуют, важны как с теоретической, так и с практической точек зрения, их необходимо обязательно учитывать при проведении экспериментальных исследований, доклинических и клинических испытаний. Относительно недавно стало известно, что в крови человека совсем нет карбоксилэстераз, в то время как важнейшей особенностью плазмы крови грызунов (наиболее популярный объект в экспериментальных исследованиях) является наличие в ней большого количества карбоксилэстераз. В плазме крови быка также отсутствуют карбоксилэстеразы, но именно бычий альбумин является наиболее дешевым и доступным для проведения лабораторных исследований. Совокупность этих и других фактов и вопросов определяет актуальность темы диссертационного исследования В.И. Шмурака.

Цель работы состояла в исследовании *in vitro* и *in silico* связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы. Представляется принципиально важной предложенная диссертантом универсальная схема взаимодействия с альбумином субстратов и ингибиторов эстераз, которая применима, с одной стороны, для определения характеристик предстационарного и стационарного состояния альбумина как единой молекулы, другой стороны – для определения аналогичных характеристик каждого из двух сайтов Садлоу. Установлено, что сайт Садлоу I КСА обладает максимальной каталитической эффективностью по отношению к *n*-нитрофенилацетату, тогда как сродство сайта Садлоу II БСА к *n*-нитрофенилацетату выше по сравнению с КСА и ЧСА. В то же время, по отношению к параоксону каталитическая эффективность

сайта Садлоу I максимальна у БСА, в десятки раз превышая каталитическую эффективность КСА и ЧСА. Эти и другие данные, полученные с применением специфических ингибиторов, убедительно доказывают, что характеристики КСА и ЧСА гораздо ближе между собой, но существенно отличаются от характеристик БСА. Интересно также отметить, что фосфорилирование сайта Садлоу II всех трех видов альбумина при взаимодействии с параоксоном происходит быстрее ацетилирования этих сайтов. Трудоемкие дополнительные исследования кинетики взаимодействия с альбумином высокотоксичного зомана с применением метода косвенной оценки активности альбумина через определение остаточного ингибирования ацетилхолинэстеразы позволили диссертанту высказать предположение о преимущественно транспортных функциях сайта Садлоу II при токсикологически релевантных концентрациях зомана. К тому же данные молекулярного моделирования свидетельствуют о том, что сродство к Tyr411 в Садлоу II выше у нетоксичных P(+) изомеров зомана, в то время как сродство к сайту Садлоу I выше у токсичных P(-) изомеров зомана и оптически неактивного параоксона. Казалось бы, альбумин должен каталитически инактивировать фосфорорганические соединения в сайте Садлоу I, если учесть другие данные, полученные в данной работе и свидетельствующие о каталитических возможностях сайта Садлоу I (Tyr150, Ser193, Lys402). Однако не все так просто: во-первых, катализ происходит медленно, а во-вторых – и это, может быть, самое главное – данные молекулярного моделирования характеризуют вторую стадию взаимодействия ФОС с сайтами альбумина, отсюда и противоречие между данными, полученными *in vitro* и *in silico*. Первичное сродство, характеризуемое кажущейся константой Михаэлиса или субстратной константой, в сайте Садлоу I на два порядка ниже, чем в сайте Садлоу II. Диссертант в своей работе не только продемонстрировал владение методами молекулярного моделирования и биохимическими методами, но красиво и убедительно доказал, что в современной науке комплексный подход с применением методов биофизики и биохимии способен решать очень сложные и противоречивые задачи.

Вышеизложенное позволяет заключить, что диссертант провел экспериментальные исследования на современном методическом уровне. Количество публикаций по теме диссертации существенно превышает требования,

предъявляемые к кандидатским диссертациям. Содержание автореферата отличается логической завершённостью, наиболее важные результаты представлены в таблицах и рисунках. Единственное замечание касается качества печати: надписи на рис.4 и оттенки на рис.6 трудноразличимы. Других замечаний и вопросов по содержанию, выводам и оформлению автореферата нет.

Представленное диссертационное исследование по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и методическому уровню исследований соответствует требованиям п.9 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а его автор, Шмурак Владимир Игоревич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Главный научный сотрудник Института биофизики клетки РАН,
доктор биологических наук, профессор

Новоселова Елена Григорьевна

Специальность: 03.01.04 – биохимия.

Адрес: 142290, г.Пушино Московской обл., ул. Институтская, 3, ИБК РАН
Телефоны: (4967) 73-05-19; (4967) 33-05-09. Эл. почта: admin@icb.psn.ru

подпись Новоселовой Е.Г. заверяю:

