

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор МГУ имени М.В.

Ломоносова,

доктор физ.-мат. наук,

профессор



Федянин А.А.

2016 г.

ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу Ведерникова Александра Андреевича «Сравнительное исследование механизмов Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий печени некоторых видов млекопитающих и птиц», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «биохимия».

Диссертационная работа А.А. Ведерникова, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, посвящена изучению механизмов Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации митохондрий печени разных видов млекопитающих (мыши, крысы и кролики) и птиц (голуби, цесарки серо-крапчатой популяции и цесарки загорской белогрудой породы).
Актуальность темы исследования.

Хорошо известно, что индукция неспецифической Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий приводит к нарушению их энергетических функций, прежде всего синтеза АТФ, а также может вызвать набухание матрикса митохондрий, разрыв внешней мембраны и, как следствие, выход находящихся в межмембранном пространстве

цитохрома *c* и других, так называемых, апоптогенных белков. В связи с этим индукция поры во внутренней мембране митохондрий рассматривается как один из факторов гибели клеток при различных патологических состояниях, что в конечном итоге может привести к нарушению функций жизненно важных органов, а это, в свою очередь, может быть причиной гибели всего организма.

Механизмы и пути регуляции Ca^{2+} -зависимой неспецифической проницаемости изучены главным образом на митохондриях лабораторных крыс и мышей, которые характеризуются относительно короткой продолжительностью жизни. Имеются лишь фрагментарные данные, свидетельствующие о возможности индукции Ca^{2+} -зависимой поры в митохондриях других видов позвоночных и беспозвоночных животных. Птицы представляют собой весьма интересный объект для исследования, поскольку, как известно, по сравнению с млекопитающими одинаковой массы тела характеризуются более интенсивным метаболизмом, более высокой температурой тела и большей потенциальной максимальной продолжительностью жизни. Однако до сих пор отсутствуют данные о механизме и пути регуляции Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации в митохондриях жизненно важных органов птиц.

Научная новизна и научно-практическая значимость работы.

Научная новизна работы не вызывает сомнения. Результаты исследования содержат новые сведения, дающие представления об особенностях функционирования Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации митохондрий печени птиц. В работе впервые продемонстрировано, что в митохондриях печени голубей и цесарок имеется циклоспорин А (ЦсА)-чувствительный механизм индукции Ca^{2+} -зависимой поры, как в митохондриях печени млекопитающих. При этом достаточно убедительно показано, что митохондрии печени указанных птиц по сравнению с митохондриями печени млекопитающих обладают большей резистентностью к действию ионов кальция и окисляющего агента *трет-*

бутилгидропероксида (ТБГ) как к индукторам ЦсА-чувствительной поры. Автором отмечено, что митохондрии печени голубей, в отличие от митохондрий печени млекопитающих и цесарок, не способны эффективно поглощать и удерживать ионы кальция в матриксе. В диссертационной работе впервые дана оценка индукции α, ω -гексадекандикарбоновой кислотой (ГДК) Ca^{2+} -зависимой ЦсА-нечувствительной пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий печени мышей, кроликов, голубей и цесарок. Показано, что в митохондриях печени животных указанных видов различия в резистентности к действию ионов кальция как индуктору ЦсА-чувствительной поры и к ГДК как индуктору Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации не связано с особенностями функционирования системы окислительного синтеза АТФ.

Представленная диссертационная работа имеет, прежде всего, значение для фундаментальной науки в области эволюционной биохимии и биоэнергетики. Принимая во внимание важную роль Ca^{2+} -зависимой неспецифической пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий для нормального функционирования клетки, а также ее участие в развитии патологических процессов, несомненно, что полученные в ходе выполнения исследования позволят лучше понять связанные с функционированием митохондрий механизмы, определяющие различия в видовой продолжительности жизни гомойотермных животных.

Структура и содержание диссертационной работы.

Диссертационное исследование оформлено классически и включает введение, обзор литературы, описание методов исследования, результаты исследования и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Работа изложена на 106 страницах машинописного текста, включая список литературы, проиллюстрирована 36 рисунками и 7 таблицами. Список литературы содержит ссылки на 205 источников, большинство из которых зарубежные.

Во **введении** автор аргументированно обосновывает выбор темы диссертации, ее актуальность, практическую значимость и научную новизну.

Кроме того, во введении грамотно формулируются цели и задачи исследования, а также основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор литературы и содержит пять разделов, в которых приводятся сведения об истории исследования вопроса, а также данные, необходимые для понимания современного состояния проблемы. Автор проанализировал достаточно обширный список научных работ по направлению исследования и представил обзор исследований о роли ионов кальция в индукции неспецифической проницаемости внутренней мембраны митохондрий и гибели клеток. Представлены также данные о значении, механизмах и особенностях индукции неспецифической проницаемости внутренней мембраны митохондрий, выделенных из различных органов и тканей животных различных видов. В целом литературный обзор полностью соответствует теме диссертационной работы.

Глава **«Материалы и методы исследования»** содержит подробное описание использованных экспериментальных подходов. Применяемые автором методы исследования изложены достаточно подробно и предполагают, при необходимости, возможность воспроизведения указанных экспериментов.

Глава **«Результаты и их обсуждение»** полностью отражает логику исследования и состоит из пяти разделов, которые хорошо иллюстрированы и дополнены таблицами. В первом разделе автором представлены данные о характере дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени указанных выше птиц и млекопитающих. Во втором разделе рассматриваются результаты сравнительного исследования индукции кальций-зависимой ЦсА-чувствительной поры во внутренней мембране митохондрий печени млекопитающих и птиц разных видов. В третьем разделе представлены данные изучения кинетики поглощения Ca^{2+} митохондриями печени млекопитающих и птиц разных видов при индукции ЦсА-чувствительной поры. Была определена и проанализирована кальциевая емкость митохондрий животных. Исключение составили митохондрии

голубей, которые не способны эффективно поглощать и удерживать ионы кальция в матриксе. В четвертом разделе выяснено как влияет окисляющий агент ТБГ на индукцию кальций-зависимой ЦсА-чувствительной митохондриальной поры. В заключительном пятом разделе главы «Результаты и их обсуждение» рассматривается действие ГДК как индуктора Ca^{2+} -зависимой ЦсА-нечувствительной неспецифической проницаемости внутренней мембраны митохондрий печени млекопитающих и птиц разных видов.

В **заключении** автор в развернутой форме обобщает и резюмирует основные итоги проведенного диссертационного исследования. Сформулированные на основе проведенной работы **выводы** соответствуют цели и поставленным задачам исследования.

Замечания к работе.

Существенных недостатков в диссертации не выявлено. Однако к работе имеется несколько небольших замечаний. Представленные выводы слишком большие, что затрудняет их восприятие. Автору следовало бы сформулировать их более лаконично, или разделить на несколько разных выводов. В тексте работы помимо русскоязычных аббревиатур встречаются и англоязычные аналоги тех же самых сокращений (стр. 14 диссертации). Следовало бы унифицировать использование сокращений. В обзоре литературы присутствует раздел 1.4 (стр. 28 диссертации), в которой рассматриваются особенности индукции Ca^{2+} -зависимой неспецифической проницаемости в митохондриях, выделенных из различных органов и тканей, однако в самом исследовании подобная тканевая специфичность не отражена. Указанные недостатки носят рекомендательный характер, не касаются существа работы и не снижают ценности и значения выполненного исследования.

Рекомендации по использованию научных выводов диссертационного исследования.

Результаты проведенной диссертантом работы могут быть использованы в научных учреждениях, занимающихся биоэнергетикой митохондрий, мембранологией, клеточной патофизиологией, а также вопросами клеточной гибели и старения организма. Так, основные результаты исследования могут быть использованы в ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН и ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Полученные данные можно использовать при чтении спецкурсов для студентов высших учебных заведений.

Обоснованность научных положений, выводов и заключений.

Научные положения и выводы полностью обоснованы, достоверны и логически вытекают из результатов проведенного исследования и полноценно их отражают. В работе использовались соответствующие поставленным целям и задачам общепринятые экспериментальные биохимические и биофизические методы, а также адекватные методы статистической обработки полученных данных. Полученные в работе результаты неоднократно были представлены на международных научных конференциях. По итогам научной работы диссертанта было опубликовано 4 работы в реферируемых журналах из списка ВАК РФ. Особо следует отметить публикацию в журнале *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, в которой диссертант является первым автором. При разработке исследуемой проблемы автором совместно с коллегами было получено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Заключение.

Таким образом, представленная к защите диссертационная работа Ведерникова Александра Андреевича «Сравнительное исследование механизмов Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий печени некоторых видов млекопитающих и птиц» по актуальности проблемы, методическому уровню, достоверности и новизне

полученных результатов, по обоснованности и аргументированности сформулированных выводов является завершенной научно-квалификационной работой. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основное содержание диссертации.

Диссертационная работа Ведерникова Александра Андреевича полностью соответствует основным квалификационным критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «биохимия».

Отзыв обсужден на семинаре отдела биоэнергетики НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ «13» *02/09/16* 2016 г. Протокол № 1.

Зам. Директора НИИ физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского
Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова,
академик РАН



Богданов Алексей Алексеевич

Зав. лабораторией
структуры и функции митохондрий
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ,
доктор биологических наук, профессор



Зоров Дмитрий Борисович

119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр. 40. Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; (8495) 9395359; fxb@genebee.msu.su