

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Харечкиной Екатерины Сергеевны «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид-аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля», предоставленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Явление индукции неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) исследуется на протяжении примерно 60 лет. К настоящему времени обнаружены некоторые белки, являющиеся ее регуляторами, и описаны основные механизмы регуляции. Однако молекулярная структура поры остается не установленной. При этом известно, что открывание РТР является критическим фактором, запускающим гибель клеток при развитии многочисленных заболеваний (нейродегенеративные, нейромышечные заболевания, ишемия-реперфузионные повреждения органов и т.д.), напротив, опухолевые клетки демонстрируют сниженную чувствительность к открыванию поры. В тоже время, клинические исследования, изучающие препараты, воздействующие на предполагаемые компоненты и известные регуляторы РТР, показали их неэффективность. Поэтому поиск новых механизмов регуляции поры является весьма актуальной задачей.

Диссертационная работа Харечкиной Екатерины Сергеевны посвящена исследованию влияния пиридиновых нуклеотидов, действующих со стороны цитозоля, на индукцию РТР, а также на генерацию супероксид-аниона, вызванную пермеабиллизацией митохондриальных мембран. Автором было изучено влияние добавленных НАД, НАДН, НАДФ, НАДФН на открывание РТР в изолированных митохондриях печени крыс. Обнаружено, что среди них ингибирующее действие оказывают НАД и НАДН, при этом действие НАДН более сильное. Интересно, что магний дозозависимо усиливал эффект НАД(Н). С целью обнаружения сайта действия нуклеотидов, автором была проведена большая экспериментальная работа по исследованию влияния предполагаемых сайтов - нуклеотид-связывающих белков внешних отделов митохондрий на ингибирующее действие НАД(Н), оказываемое на пору. И хотя НАД(Н)-связывающий регулятор РТР не был установлен, полученные данные убедительно показывают, что искомым сайтом не являются белки ScaMC и VDAC. При этом обнаружено, что ингибирование другого предполагаемого НАД(Н)-зависимого регулятора РТР – транслоказы адениновых нуклеотидов (АНТ) в «с»-конформации, сильно снижает эффект НАД и НАДН. Однако, неспособность ингибиторов полностью подавить действие НАД(Н) не позволила автору заключить, что НАД(Н)-связывающим регулятором РТР является АНТ. Впервые показано, что НАДН и НАД влияют на обмен адениновых нуклеотидов, опосредованный работой АНТ. Также результаты диссертационной работы демонстрируют, что пиридиновые нуклеотиды цитозоля регулируют генерацию всплеск супероксид-аниона, которые возникают при пермеабиллизации митохондрий. Показано, что условия, поддерживающие митохондриальные НАД(Ф)Н-связывающие редокс-центры в восстановленном состоянии, предотвращают продукцию супероксид-аниона. Максимальный уровень АФК наблюдается тогда, когда основной пул НАД(Ф)Н находится в окисленном состоянии. При этом НАДН-зависимая генерация всплеск была в несколько раз слабее, чем НАДФН-зависимая. Автором показано, что главными источниками как НАДН-, так и НАДФН-зависимой продукции супероксид-аниона являются редокс-системы матрикса митохондрий.

Работа выполнена на высоком уровне с использованием современных методов исследования. Следует отметить, что в ходе исследования Харечкиной Е.С. был получен большой объем оригинального материала, который опубликован в 4 научных журналах, 3 из которых индексируются в международной реферативной базе Web of Science.

Диссертационная работа «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид-аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля» отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Харечкина Е.С., заслуживает присуждения искомой степени.

к.б.н., доцент кафедры биофизики
Института биологии и биомедицины
ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Шилягина Наталья Юрьевна

Сведения об организации:

Институт биологии и биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,

факс: (831) 462-30-85,

эл.почта: unn@unn.ru,

сайт: www.unn.ru

