

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.

Пиридиновые нуклеотиды являются молекулами широкого спектра действий: они участвуют в редокс-реакциях в качестве переносчиков электронов, являются субстратами многих ферментов, которые регулируют гомеостаз кальция, митохондриальный биогенез, клеточную гибель и др. процессы в клетках. Кроме того, пиридиновые нуклеотиды матрикса являются известными регуляторами неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР). Поскольку было показано, что клеточная гибель, вызванная открыванием РТР, лежит в основе развития многих патологических процессов, поиск мишеней фармакологического воздействия на индукцию РТР и механизмов ее регуляции является весьма актуальной задачей. При этом регуляция РТР пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля остается не изученной. Диссертационная работа Харечкиной Е.С. посвящена исследованию именно этого вопроса.

В ходе проведения исследования автором было обнаружено, что во внешних отделах митохондрий локализован аллостерический НАД(Н)-связывающий сайт регуляции РТР. НАДН и НАД дозозависимо ингибируют пору, тогда как НАДФ и НАДФН оказались не эффективными. Автор обосновано выдвигает несколько нуклеотид-связывающих белков внешних отделов митохондрий, наиболее подходящих на роль НАД(Н)-зависимого регулятора РТР: потенциал-зависимый анионный канал (VDAC), короткий Ca^{2+} -связывающий митохондриальный переносчик (SCaMC) и транслоказа адениновых нуклеотидов (АНТ). В ходе работы была проанализирована их роль в ингибировании поры с помощью НАД и НАДН. Было установлено, что белки VDAC и SCaMC не являются НАД(Н)-зависимыми регуляторами РТР. Впервые показано, что НАД и НАДН, воздействуя на АНТ, стимулируют выход адениновых нуклеотидов в цитозоль. При этом ингибиторы АНТ модулировали эффект НАД(Н), оказываемый на пору. Известно, что пермеабилзация митохондриальных мембран в результате открывания РТР приводит к всплеску генерации активных форм кислорода, так называемым «вспышкам». Применяя высокочувствительный зонд MCLA для детекции супероксид-аниона, Харечкина Е.С. показала, что рост продукции аниона сопровождает процесс пермеабилзации независимо от механизма его индукции (открывание РТР или действие пороформирующих токсинов). Обнаружено, что поддержание НАД(Ф)Н-зависимых редокс-центров в восстановленном состоянии замедляет появление всплесков супероксид-аниона. Изучена концентрационная зависимость влияния добавленных НАДФН и НАДН на уровень продукции супероксид-аниона: увеличение концентрации постепенно отодвигало начало появления пика продукции и снижало его величину. При этом максимальный уровень супероксид-аниона наблюдается после окисления основной части НАД(Ф)Н. На основе полученных данных автором сделано заключение, что основной вклад в генерацию всплесков супероксид-аниона вносят НАДФН-зависимые системы матрикса митохондрий.

Вместе с тем есть несколько вопросов к экспериментам в работе:

1. Проверяли ли влияние НАДН и НАДФН на хемолуминесценцию MCLA? Возможно, нуклеотиды взаимодействуют с молекулой зонда и тушат сигнал MDCL?

2. Набухание митохондрий приводит к увеличению прозрачности суспензии. Не связано ли повышение хеоломинесценции MCLA с увеличением прозрачности среды?

Высказанные замечания не умаляют ценности работы. Выводы конкретны, обоснованы и не вызывают сомнений. По результатам диссертации опубликованы 4 статьи, 3 из которых включены в базу цитирования Web of Science. Кроме того, результаты работы прошли апробацию на нескольких международных конференциях. Содержание автореферата и опубликованных автором работ отражает основные положения диссертации.

Насколько можно судить по автореферату, по своей актуальности, научной новизне, научно-практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Харечкиной Екатерины Сергеевны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, отвечающую всем требованиям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в ВАК. Автор работы, Харечкина Е.С., вне всякого сомнения, заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидат биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

11.02.2021

Кандидат биологических наук



Венедиктова Наталия Игоревна

Старший научный сотрудник лаборатории митохондриального транспорта Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

Адрес: 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3

Тел. +7(919)768 24 27,

e-mail: tiggra4@yandex.ru

Подпись Венедиктовой Н.И. заверяю:

Ученый секретарь ИТЭБ РАН

Кандидат биологических наук



Перевязова Татьяна Анатольевна