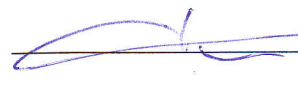


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук»
Доктор физ.-мат. наук
П.Я.Грбарник


«29» сентября 2023



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Хизриевой С.И. «Интенсивность оксидативного стресса и структурно-функциональное состояние мембран митохондрий печени крыс при гипотермии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 биохимия

Актуальность темы диссертационной работы

Проблемы, связанные с гипотермией, когда температура тела может существенно снижаться, уже много лет являются актуальными. Более того, в настоящее время гипотермия нашла широкое практическое применение в медицине при хирургических вмешательствах, поскольку обладает рядом протективных свойств. Однако гипотермия вызывает ряд нежелательных изменений. Гипотермия приводит к метаболическому ацидозу, увеличению вязкости плазмы крови, снижению деформируемости эритроцитов и затруднению их прохода через микрокапилляры, увеличения сродства гемоглобина к кислороду, в результате чего наступают гипоксические состояния.

В последнее время было показано, что гипотермические состояния организма вызывают генерацию активных форм кислорода (АФК) с последующим развитием окислительного стресса. Развитие окислительного стресса является причиной развития многих патологических состояний, таких как атеросклероз, диабет, болезни респираторного тракта, ишемически-реперфузионные поражения и др., и понимание молекулярных механизмов регуляции редокс гомеостаза в клетках и тканях позволяет глубже понять патогенез вышеуказанных свободнорадикальных патологий, а также создает предпосылки для разработки новых подходов в их терапии.

В этом отношении особое место занимает печень, в гепатоцитах которой происходит биохимическая трансформация токсических соединений, в том числе продуктов ПОЛ и ОМБ, которые могут поступать в печень из крови. Одним из важнейших органелл гепатоцитов являются митохондрии, в которых протекает

множество метаболических процессов. Одновременно они являются одним из источников АФК в клетке и одновременно служат для них мишенью, что приводит к нарушениям целостности структуры и функций митохондрий.

Таким образом, исследование метаболизма митохондрий является актуальной задачей.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа построена по традиционной схеме и включает следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Выводы, Список литературы. Диссертация изложена на 160 страницах, содержит 29 рисунков и 6 таблиц. Список литературы включает 273 источника. Текст работы изложен в строгом логическом порядке, дающем возможность понять все основные этапы исследования и оценить полученные результаты.

Во **Введении** диссертант убедительно и аргументированно обосновывает актуальность выбранной темы, на основании чего формулируются цели и задачи исследования. Введение четко структурировано и позволяет в сжатой форме получить представление о содержании диссертационной работы.

Обзор литературы состоит из восьми частей, в которых проводится детальный анализ гипотермии и окислительного стресса. Обзор проведен с использованием 273 научных публикаций (68 – отечественных, 205 – зарубежных изданий). Представленные данные дают исчерпывающую информацию о функционировании митохондрий и роли АФК и их производных как в норме, так и при различных свободно-радикальных состояниях. Описываются механизмы повреждающего действия АФК и их производных, лежащих в основе патогенеза многих социально-значимых заболеваний. Значительная часть литературного обзора посвящена гидропероксид-восстанавливающим ферментам, как наиболее важным элементам регуляции редокс гомеостаза клетки. Следует отметить строгость и логичность изложения литературного обзора. Объем проделанной работы свидетельствует о несомненной компетентности диссертанта в данной тематике.

В главе **Материалы и методы**, включающей 22 подраздела, описывается широкий спектр биохимических и биофизических методов, использованных в диссертационной работе. Методическая часть описана достаточно подробно, в ней дается описание проведенных экспериментальных процедур и методов анализа полученных данных. Работа выполнена на высоком методическом уровне, с применением современных методов на клеточных моделях искусственно вызванного окислительного стресса. Впечатляющий объем выполненной работы и разнообразие методов свидетельствует о высокой квалификации диссертанта. Единственным замечанием является описание модели гипотермии крысы (см. «Замечания»).

Глава **Результаты** состоит из 9 основных частей, которые соответствуют целям и перечню задач, сформулированных в диссертации.

1. Показано, что умеренная кратковременная гипотермия длительностью до 1 ч приводит к повышению уровня всех маркеров окислительного стресса (ОМБ, ПОЛ) и снижению уровня и активности компонентов АОС. Пролонгирование умеренной гипотермии до 3 ч способствует нормализации исследуемых маркеров, тогда как глубокая гипотермия приводит только к повышению уровня ОМБ.

2. Показано, что как умеренная, так и глубокая гипотермия обуславливают схожие изменения структурно-динамических характеристик митохондриальных мембран: снижение микровязкости липидного бислоя и зон белок-липидных контактов, увеличение полярности липидного бислоя, конформационные изменения мембранных белков.

3. Кратковременная глубокая и умеренная гипотермия длительностью до 1 ч вызывает снижение кальциевой ёмкости и скорости набухания митохондрий, увеличение скорости глутамат- и сукцинат-зависимого дыхания. Пролонгирование умеренной гипотермии до 3-х часов приводит к нормализации функциональных показателей митохондрий.

Представленные в диссертации научные результаты свидетельствуют о том, что поставленные автором задачи были успешно решены. Подавляющая часть результатов, представленных в диссертации, опубликована в 5 отечественных научных журналах из списка ВАК. Результаты данной работы были доложены на отечественных и международных конференциях. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений. Выводы диссертационной работы четко сформулированы и полностью отражают суть полученных результатов.

Тема диссертации, ее положения и выводы полностью соответствуют специальностям 1.5.3. – Биохимия

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации имеет стандартное оформление, соответствует установленным требованиям и полностью отражает результаты проведенной работы, позволяя получить представление о новизне, актуальности, методах исследования, основных результатах и выводах.

Научная новизна полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы С.И. Хизриевой не вызывает сомнений. Впервые продемонстрировано влияние гипотермии различной глубины и длительности на состояние прооксидантной и антиоксидантной систем, структурно-динамические и функциональные параметры митохондрий печени крыс. Показано, что в митохондриях печени крыс при умеренной кратковременной и пролонгированной до 1 ч гипотермии происходит интенсификация ПОЛ и ОМБ и держится на уровне контрольных значений при пролонгированной гипотермии. Установлено, что умеренная кратковременная гипотермия и ее пролонгирование оказывают значительный эффект на ряд функциональных параметров митохондрий: увеличиваются скорости дыхания и фосфорилирования, изменяются коэффициент окислительного фосфорилирования,

Научно-практическая значимость работы

Результаты диссертационной работы С.И.Хизриевой вносят существенный вклад в понимание молекулярных механизмов функционирования митохондрий при низких температурах тела гомойотермных животных. Это может иметь практическое значение для различных медико-биологических приложений, в том числе связанных с адаптацией организма в условиях Заполярья и Крайнего Севера, при выполнении физических нагрузок в экстремальных температурных условиях

Рекомендации по использованию материалов диссертации в учебных целях

Материалы диссертации могут быть использованы в ВУЗах при подготовке лекций, методических материалов и специальных курсов по биохимии и биофизике на факультетах биомедицинского профиля, а также в НИИ соответствующего профиля. В частности, в Институте биофизики клетки РАН, Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Институте химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, на кафедре медицинской и биологической физики Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, на факультете фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова и факультете биологической и медицинской физики МФТИ и др.

Вопросы и замечания

Диссертация лишена существенных недостатков, однако есть несколько замечаний, которые следует отметить.

1. Очень кратко описана методика охлаждения животного. Непонятно, как охлаждалось животное: воздушное охлаждение или животное помещалось в воду? Фиксировалось ли животное и применялся ли наркоз? Какая температура охлаждающей воды? Как поддерживалась постоянная температура животного при длительной гипотермии (3 часа). Желательно было бы дать график охлаждения организма по времени. Вряд ли это было равномерное охлаждение, особенно в первый период охлаждения. Вообще нужно было дать схему установки и ее фотографию.
2. Каковы, по мнению авторов, механизмы повышенной генерации АФК при гипотермии?
3. Одна из основных функций митохондрий – синтез АТФ. Он не измерялся, однако что можно было бы сказать по этому поводу.
4. В обсуждении следовало бы обсудить, как выявленное изменение в метаболизме митохондрий влияет на общий метаболизм гепатоцитов.
5. Имеется ряд ошибок в тексте. В частности, постоянно говорится об уменьшении количества SH-групп в белках. На самом деле увеличивается количество окисленных SH-групп в белках и соответственно уменьшение восстановленных SH-групп, что, кстати, отмечается в Лит.обзоре.

Следует отметить, что высказанные выше замечания не носят принципиального характера, а скорее являются рекомендацией по улучшению последующей работы и не снижают высокой научной значимости диссертационной работы С.И.Хизриевой.

Заключение

Диссертационная работа диссертацию С.И.Хизриевой «Интенсивность оксидативного стресса и структурно-функциональное состояние мембран митохондрий печени крыс при гипотермии» является цельной, завершенной научно-квалификационной работой. По своей актуальности, значимости, новизне, достоверности полученных результатов и объему выполненных исследований диссертация С.И.Хизриевой полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября

