

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Албантовой Анастасии Александровны «Влияние биологически активных соединений с антиоксидантной и рострегулирующей активностью на клеточные и субклеточные структуры», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

В процессе жизнедеятельности живых систем в результате метаболизма могут возникать свободные радикалы, а также активные формы кислорода (АФК), которые могут запускать цепные реакции и вызывать повреждение биоструктур. В тоже время в живых системах имеются естественные антиоксиданты (α -токоферол, убихиноны, коэнзимы, белки: каталаза, супероксиддисмутаза, а также мелатонин, аминокислоты, глутатион, некоторые витамины и др.), которые являются ингибиторами этих процессов. Сотрудники Института химической физики РАН внесли большой вклад в развитие теории цепных процессов и роли прооксидантов и антиоксидантов в живых системах. Были созданы также уникальные препараты, такие как эмоксипин и мексидол, нашедшие применение в медицинской практике.

Перспективными в настоящее время являются синтезированные гибридные антиоксиданты, которые сочетают антиоксидантную активность и способность избирательно взаимодействовать с биосистемой. В последние годы широко обсуждается действие синтетических антиоксидантов в низких концентрациях на биологические системы. Работы, изучающие воздействия антиоксидантов на растительные и животные клеточные системы, чаще всего проводятся *in vitro*, вследствие этого дискуссионным остается вопрос, насколько эти результаты соответствуют реальным процессам, происходящим в клетках живого организма.

Поэтому цель данной работы выяснить действие синтетических антиоксидантов из класса пространственно затрудненных фенолов и регулятора роста растений мелафена на клеточные и субклеточные структуры и индукцию белков апоптоза представляется обоснованной.

Диссертация написана по стандартному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и списка

цитируемой литературы.

Во введении обоснована актуальность темы, чётко сформулированы цель и задачи работы, охарактеризована научная новизна полученных результатов и их практическая значимость.

Первая глава содержит обзор литературы по теме роль природных и синтетических антиоксидантов в поддержании жизнедеятельности на растительные и животные организмы и сохранение их структур в стрессовой ситуации. Отдельно рассматривается структура и свойства широко используемых в настоящее время синтетические антиоксиданты на основе пространственно затрудненных фенолов: фенозан К и ИХФАН-10.

Ранее были проведены многоплановые исследования по изучению действия ИХФАНов и фенозана К, а также мелафена на структурные свойства мембран разного уровня организации.

Одной из удобных моделей для исследования воздействия антиоксидантов могут служить эритроциты, которые кроме основной функции переносчика кислорода, осуществляют и транспортные функции. Кроме того, эритроциты осуществляют и защитную функцию - адсорбируют токсины и антитела. Исследование изменения архитектоники эритроцитов под действием различных мембранотропных веществ и антиоксидантов проводили методом электронной микроскопии.

Данные, полученные методом атомно-силовой микроскопии о геометрических параметрах каждого имиджа эритроцита, с привлечением методов статистики, могут позволить выявить возможные изменения в морфологии эритроцитов под действием исследуемых биологически активных соединений и дать им объяснение.

Для растительных объектов в качестве модельной системы используют митохондрии. Митохондрии являются ключевыми звеньями в энергетических, окислительно-восстановительных и метаболических процессах в клетке. Известно, что обработка растений сильными окислителями – продуцентами АФК приводила к изменению формы и размеров митохондрий

Во второй главе подробно и четко описаны материалы и методы исследования.

Глава 3. Исследовали действия рост-регулятора мелафена на структурные характеристики растительных органелл и животных клеток, и на индукцию белков пути апоптоза в клетках мышей линии АКЭ.

Объектом исследования были митохондрии, выделенные из проростков гороха. Следует отметить, что митохондрии – это клеточные органоиды, морфофункциональное состояние которых при выделении их из клеток легко нарушается. Несомненным достоинством представленной работы является то, что были подобраны условия, при которых естественные агрегаты делящихся митохондрий сохранялись, что позволило установить влияние стрессовых условий и мелафена на такую важную характеристику, как способность митохондрий к делению. Исследования проведены при помощи атомно-силовой микроскопии, которая позволила получить новые данные о морфологии митохондрий, как одиночных, так и находящихся в связанных агрегатах при делении.

Для изучения влияния регулятора роста растений мелафена, были проведены эксперименты по предварительной обработке семян гороха раствором препарата мелафена в концентрации 2×10^{-12} М. Проращивание семян проводили в стрессовых условиях: при совместном действии недостаточного увлажнения и умеренного охлаждения ($НУ+14^{\circ}С$). Эксперименты показали, что антиоксидант мелафен в малых дозах предотвращал изменение в жирно-кислотном составе митохондрий, оказывал существенное воздействие на микровязкость, уровень ПОЛ, активировал перенос электронов при окислении НАД-зависимых субстратов, а также изменял структурные характеристики мембран митохондрий гороха.

Средние значения АСМ имиджей митохондрий проростков гороха, подвергшихся двухдневному воздействию недостаточного увлажнения и умеренного охлаждения, существенно изменялись и отличались от контрольных образцов. При этом наблюдали увеличение размерных параметров имиджа митохондрий, и значительное число набухших митохондрий, а число делящихся митохондрий существенно уменьшалось. Однако, предварительное замачивание семян в растворе мелафена (2×10^{-12} М) предотвращало изменения геометрических параметров митохондрий находящихся в условиях $НУ+14^{\circ}С$ и эти параметры были близки к контрольной группе. Процесс набухания митохондрий растений при

стрессовых воздействиях в последнее время привлекает особое внимание, поскольку может явиться началом процесса апоптоза растительной клетки. Об этом свидетельствуют данные других авторов.

В работе было изучено влияние совместного умеренного охлаждения и недостаточного увлажнения в мембранах митохондрий проростков на перекисное окисление липидов по спектрам флуоресценции. Обнаружено накопление ПОЛ продуктов в 2,5-3 раза относительно контроля. Предварительное замачивание семян в 2×10^{-12} М растворе мелафена с последующим воздействием НУ+14°C, приводило к снижению содержания продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий до контрольного уровня, что согласуется с мнением ряда авторов.

Глава 4. Эксперименты по влиянию мелафена на морфологические параметры эритроцитов, проведенные параллельно *in vivo* и *in vitro*, позволили сделать вывод о возможном механизме действия препарата (по видимому мелафен действует непосредственно на эритроциты, а не вызывает выход новых клеток с отличными морфологическими параметрами при введении в организм). К положительным моментом можно отнести исследование антиоксидантов фенозана К и ихфана 10 *in vivo* и *in vitro* в широком диапазоне концентраций. Сравнение действие препаратов при разных условиях введения позволило выявить особенности механизма действия антиоксидантов непосредственно на клетки. Важно, что выявленные эффекты сопоставлены с распределением веществ во внутримембранном пространстве и обнаружены определенные закономерности.

Данные, полученные методом атомно-силовой микроскопии о геометрических параметрах каждого имиджа эритроцита, с привлечением методов статистики, позволили выявить возможные изменения в морфологии эритроцитов под действием исследуемых биологически активных соединений и дать им объяснение. Приведенные в работе рисунки достаточно информативны.

Вместе с тем при чтении работы возникло ряд замечаний.

1.С большим трудом читаются предложения на 10-12 строк, в которых написано все сразу.

2. Вводит в заблуждение частое цитирование в разделах результатов. Оказалось, что цитируются свои публикации.

3. Имиджи митохондрий представлены в разных масштабах, что затрудняет их сопоставление.


Указанные замечания не оказывают существенное влияние на качество выполненной работы.

Заключение

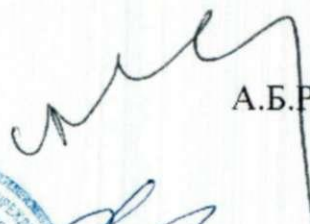
Выводы диссертации отражают полученные в работе экспериментальные данные. Автореферат включает основные положения диссертационной работы. Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с требованиями ВАК.

Диссертация Албантовой Анастасии Александровны является научно-квалификационной работой, в которой представлены результаты, которые имеют существенное значение для биофизики, что соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Вед.н.сотр кафедры биофизики
Биологического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова
доктор биологических наук

 Т.В.Веселова

Зав. кафедрой биофизики
Биологического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова
доктор биологических наук

 А.Б.Рубин

Декан биологического факультета
МГУ имени М.В.Ломоносова, академик



 М.П.Кирпичников

01.06.2015 

Веселова Татьяна Владимировна

Адрес: 119991, г.Москва, Ленинские горы, дом 1, стр. 12.

Телефон, e-mail: 8-495-939-32-73, taveselova@yandex.ru

01.06.2015