

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу **АКОПОВОЇ Ольги Валеріївни**

«Роль мітохондріальної пори в регуляції трансмембранного обміну Ca^{2+} , енергозалежних і вільнорадикальних процесів в мітохондріях»,

представленої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Дисертаційна робота Акопової Ольги Валеріївни присвячена актуальній проблемі – дослідженню біохімічних механізмів обміну катіонів у мітохондріях та ролі мітохондріальної пори в регуляції цих процесів. Мітохондріальна пора є неселективним потенціалзалежним каналом. За фізіологічних умов цей канал може мати різну провідність, що суттєво впливає як на перебіг метаболічних процесів у матриксі мітохондрій, так і клітини в цілому. Сьогодні надійно доведено, що відкриття мітохондріальної пори задіяне у механізмах запуску апоптозу та некрозу. Тобто акцент робиться на ролі пори за патологічних станів. Проте є дані, що вказують на можливу регуляторну роль цієї структури за фізіологічних умов, зокрема як механізму звільнення органел від надлишку Ca^{2+} . Припускається, що мітохондріальна пора перехідної проникності може функціонувати і як Ca^{2+} -транспортна система. Саме ці питання є ключовими дисертаційної роботи Ольги Валеріївни. В роботі також наведені результати досліджень стосовно чинників, що впливають на функціональну активність пори. З іншого боку, автор досліджує який вплив має активація пори на перебіг певних біохімічних процесів у мітохондріях. Так, зокрема, автор вивчила механізми модуляції активності мітохондріальної пори в умовах активації потенціалзалежного та АТР-регульованого входу K^+ . Досліджувалась також роль поляризації внутрішньої мембрани мітохондрій в модуляції активності пори перехідної провідності. З іншого боку, Ольга Валеріївна встановила вплив активності мітохондріальної пори перехідної провідності на метаболізм

Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна
Національної академії наук України
11 січ 2016 р
Вх. № 39/03-07 /*Р/а/к*

активних форм кисню та активних форм азоту в умовах введення донору NO. Встановлено також вплив функціональної активності пори на характеристики синтезу АТР.

Маю зазначити, що актуальність, мета та завдання роботи сформульовані конкретно та чітко. Поставлені завдання вирішені в повному обсязі.

Дисертаційну роботу викладено за класичною схемою. У двох розділах огляду літератури наведено інформацію стосовно сучасного стану досліджуваного питання. У розділі «Матеріали та методи» детально описані усі методичні підходи, що залучала автор під час виконання роботи. Автор використовувала широкий спектр методів, зокрема, методи препаративної біохімії, абсорбційної і флуоресцентної спектроскопії, потенціометрії, полярографії, методи аналітичної біохімії, тощо. У подальших розділах наведені результати досліджень автора роботи та її колег. Викладення власних експериментальних результатів супроводжується їх обговоренням. Висновки роботи написані досить чітко.

Достовірність експериментального матеріалу та обґрунтованість висновків є достатніми. У роботі коректно використані сучасні біохімічні та біофізичні методи. Багато уваги автор приділяє аналізу отриманих результатів за допомогою методів хімічної та біохімічної кінетики, статистичного аналізу, що є запорукою їх вірогідності. Результати роботи доповідались на багатьох вітчизняних та міжнародних наукових форумах, наведено 23 тези доповідей на наукових конференціях. Дисертант є автором та співавтором 25 статей у фахових виданнях, включених до переліку ДАК України. Дисертаційна робота Акопової О.В. безпосередньо пов'язана з плановими дослідженнями відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Робота виконувалась протягом 2003-2014 рр.

Новизна наукових положень, сформульованих у дисертації, не викликає сумнівів. Автором висунута і обґрунтована концепція регуляторної ролі мітохондріальної пори перехідної проникності як системи транспортування іонів Ca, що, у свою чергу, модулює функціональний стан та потенціалзалежні процеси у мітохондріях, а саме, синтез АТФ та продукцію активних форм кисню.

Проте до роботи є деякі запитання та зауваження.

1) Твердження, що вхід Ca у мітохондрії супроводжується деполяризацією, є дискусійним.

2) Назва одного з розділів огляду літератури «Роль АТФ-зависимого транспорта К в механизмах ишемической адаптации...». Чи можна говорити про АТФ-ЗАЛЕЖНИЙ транспорт K^+ ? Адже АТФ є блокатором цього каналу.

3) Розділ 1.3. «Регуляторные функции митохондриального транспорта Ca^{2+} ». На мою думку регуляторну роль виконують власне іони Ca, а не процес транспорту цих іонів.

4) Чи можна говорити про функціонально активний стан чутливого до рутенієвого червоного транспорту Ca^{2+} у мітохондріях за присутності протонофору СССР у середовищі інкубації? Внесення до інкубаційного середовища протонофору СССР супроводжується деполяризацією мембран мітохондрій, отже, має місце інактивація залежного від поляризації внутрішньої мембрани мітохондрій Ca^{2+} уніпортеру. Проте саме Ca^{2+} уніпортер є головною системою, що забезпечує транспорт цього катіона до матриксу мітохондрій.

5) Питання до результатів одного з експериментів. Автор навантажувала мітохондрії іонами Ca. Далі проводилась деполяризація мембран мітохондрій за рахунок введення протонофору СССР та додано рутенієвий червоний, що виконує роль інгібітора Ca^{2+} уніпортеру. На такому фоні до середовища інкубації вводять іони Ca. На мою думку, за таких умов має відбутися зменшення градієнта Ca^{2+} , що, у свою чергу, призведе до зменшення виходу

цього катіона з мітохондрій. Проте автор реєструє збільшення виходу катіона. Як Ви можете це пояснити?

6) Залежність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обміну від поляризації мембран мітохондрій є дискусійним питанням.

7) Чи дозволяє чутливість методу, який було використано для реєстрації виходу іонів Ca з мітохондрій до середовища інкубації, говорити про повну блоку виходу катіона за умов інгібування уніпортеру та мітохондріальної пори перехідної провідності?

Ці зауваження мають дискусійний характер, отже принципово не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи і не знижують її наукової цінності.

Наукові положення та висновки, які сформульовані у дисертаційній роботі та авторефераті, достатньо повно викладені в опублікованих авторських працях.

Фактологічне наповнення автореферату є ідентичним основним положення дисертаційної роботи. Оформлення дисертації та автореферату відповідає встановленим вимогам.

Одержані Ольгою Валеріївною експериментальні дані мають, перш за все, фундаментальне значення, адже вони деталізують молекулярні механізми біоенергетичних ефектів оборотного відкривання мітохондріальної пори перехідної проникності. У подальшому одержані результати можуть стати підґрунтям для розробки фармакологічних засобів корекції патологічних станів організму, зумовлених дисфункцією мітохондрій.

Дисертаційна робота Акопової Ольги Валеріївни «Роль мітохондріальної пори в регуляції трансмембранного обміну Ca^{2+} , енергозалежних і вільнорадикальних процесів в мітохондріях» є завершеним фундаментальним

дослідженням в галузі біохімії, біофізики та фізіології. Дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, які висуваються до докторських дисертацій, а її автор Аكوпова Ольга Валеріївна повністю заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент –
провідний науковий співробітник
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

Л.Г. Бабіч

Л.Г. Бабіч

11.01.2016 р.

Підпис *Л.Г. Бабіч*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
національної академії наук України
"11" 01 2016 р. *Л*

