

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Ланкина Вадима Зиновьевича на диссертационную работу Владимирова Георгия Константиновича на тему «Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома с с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Биофизика» - 03.01.02.

Актуальность темы диссертации

Апоптоз (запрограммированная смерть клетки) - важный процесс нормальной жизнедеятельности тканей. Нарушение процесса апоптоза может приводить к развитию различных патологических состояний. Показано, что для запуска апоптоза необходимо образование комплекса цитохрома с с кардиолипином и проявление им пероксидазной активности, которая отсутствует у цитохрома с вне этого комплекса. В связи с этим, работа Владимирова Г.К. посвящена изучению структурных и функциональных свойств этого белково-липидного комплекса. Основной акцент работы сделан на изучение свойств комплекса цитохрома с с кардиолипином в гидрофобном окружении, поскольку этот аспект функционирования комплекса цитохрома с с кардиолипином как пускового механизма апоптоза нуждается в дополнительном изучении. Таким образом, актуальность работы определяется важностью и своевременностью исследований механизма апоптоза с участием комплекса цитохрома с с кардиолипином.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в научно-квалификационной работе, основаны на изучении значительного объема экспериментального материала. В работе использованы современные методы исследования, включая спектрофотометрические, флуориметрические, метод динамического светорассеяния и измерения кинетики хемилюминесценции, что соответствует поставленным задачам.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В работе Владимирова Г.К. впервые было проведено систематическое изучение размера комплекса цитохрома *c* с кардиолипином в гидрофобном окружении и был изучен механизм пероксидазных реакций, катализируемых этим комплексом. Определены размеры наносфер комплекса цитохрома *c* с кардиолипином, находящихся в растворенном состоянии, и конформационные свойства цитохрома *c*, находящегося в их составе. Было показано, что в разбавленных водных растворах и в гидрофобном растворителе комплекс цитохрома *c* с кардиолипином катализирует образование липидных радикалов по тому же механизму пероксидазного цикла, что и у классических пероксидаз. Кроме того, показано, что реакции липопероксидации могут быть

запущены при добавлении комплекса цитохрома *c* с кардиолипином к суспензии митохондриальных мембран в присутствии пероксида водорода.

Научно-практическая значимость исследования

Полученные результаты позволяют уточнить возможный механизм запуска апоптоза комплексом цитохрома *c* с кардиолипином, причем полученные данные могут быть использованы для обоснования необходимости поиска противораковых препаратов на основе белково-липидных комплексов с пероксидазной активностью.

Содержание работы

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 125 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 5 таблицами, 36 рисунками. Список литературы включает 190 источников, в том числе 37 отечественных и 153 зарубежных. В разделе «Введение» автором сформулированы актуальность, определена цель и задачи выполненной работы, даны формулировки новизны и практической значимости проблемы. В главе «Обзор литературы» отражены следующие вопросы: апоптоз и липидная пероксидация, структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома *c* с кардиолипином, применение

активированной хемилюминесценции для изучения образования свободных радикалов при пероксидации липидов. В главе проведен анализ отечественных и зарубежных литературных источников, что демонстрирует хорошее знакомство автора с исследуемой проблемой. В главе «Материалы и методы исследования» описаны использованные в работе методы исследований, включая спектрофотометрию и спектрофлуориметрию, метод динамического светорассеяния, метод активированной хемилюминесценции и статистический анализ. В первом разделе главы «Результаты исследований» представлены данные о строении комплекса цитохрома *c* с кардиолипином, а именно о его размере и конформации цитохрома *c* в составе комплекса. Следующий раздел посвящен изучению ферментативной активности комплекса цитохрома *c* с кардиолипином, которая была изучена автором как в водной, так и в неполярной среде, а также в среде, содержащей митохондрии.

В главе «Обсуждение полученных результатов» представлена интерпретация основных результатов выполненной работы. Автором проведен сравнительный анализ собственных результатов с данными, имеющимися в зарубежной и отечественной литературе.

Выводы вытекают из содержания диссертации, соответствуют задачам исследования и достаточно хорошо обоснованы. Автореферат и статьи в журналах, рекомендованных ВАК, опубликованные по теме диссертации, достаточно полно отражают основные положения диссертации.

Замечания к работе

Несмотря на общее благоприятное впечатление о работе, она не свободна от некоторых недостатков и неточностей, а именно:

1. Трудно согласиться с тем, что автором открыта «квази-липоксигеназная» реакция при окислении бычьего кардиолипина в присутствии цитохрома *c*, поскольку липоксигеназы, как известно, катализируют образование, а не разложение липогидропероксидов. Результаты экспериментов, проведенных автором диссертации, свидетельствуют о том, что цитохром *c* в этих условиях стимулирует гомолиз липогидропероксидов, при котором образуются алкоксильные радикалы, а не аллильные радикалы, как показано на схеме рис. 5 в автореферате и на рис. 30 в диссертации. Кстати, в этих схемах можно было бы более подробно описать интермедиаты свободнорадикального окисления кардиолипина, катализируемого цитохромом *c*, как например, это приведено в статье M.Hüttemann et al. (Mitochondrion, 2011, 11: 369-381).

2. Учитывая то, что у автора была возможность использовать в модельной системе относительно высокие концентрации компонентов, можно было бы применить для проводимого исследования метод ЭПР-спектроскопии, способный дать более конкретную информацию о радикальных процессах, чем метод хемилюминесценции.

3. Количество выводов можно было бы сократить до 5, при этом в выводах 4, 5 и 7 содержатся неуместные рассуждения, относящиеся не к констатации фактов, а к интерпретации результатов.

4. К сожалению, в тексте автореферата и диссертации имеются отдельные стилистические погрешности.

Отмеченные неточности не снижают положительной оценки диссертационной работы и не влияют на корректность выводов, а высказанные замечания носят дискуссионный характер. Можно упрекнуть автора диссертации в том, что результаты были представлены лишь на небольшом количестве представительных конференций.

Заключение

Учитывая все вышесказанное считаю, что диссертация Владимирова Георгия Константиновича на тему «Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома *c* с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Биофизика» - 03.01.02 является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит решение актуальной научной задачи - получение новых знаний о комплексе цитохрома *c* с кардиолипином, выполняющего важную роль в апоптозе: данных о его размере, химическом составе, конформации белка в комплексе и о механизме образования им свободных радикалов в гидрофобном окружении.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г.), а ее автор, Владимиров Георгий Константинович, несомненно, достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Биофизика»- 03.01.02.

Руководитель Отдела биохимии
свободнорадикальных процессов
ФГБУ «Российский кардиологический
научно-производственный комплекс» Минздрава РФ,
д.б.н, профессор

Ланкин Вадим Зиновьевич

27 ноября 2018 г.

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный
комплекс» Минздрава РФ,

121552 Москва, 3-я Черепковская, 15а

8(499) 140-93-36; info@cardioweb.ru

Подпись профессора В.З. Ланкина заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ



А.А. Скворцов

д.м.н.