

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе и
инновационной деятельности
ФГБОУ ВО «Марийский
государственный университет»



_____ А.Н. Леухин
« 11 » января _____ 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет»
от 11 января 2022 г.

Диссертационная работа Степановой Анастасии Евгеньевны на тему: «Ca²⁺-зависимая агрегация и пермеабиллизация биологических и искусственных мембран продуктами ω -окисления жирных кислот: механизмы и возможная роль в патологии клетки» выполнена на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии и на базе научно-исследовательской лаборатории «Молекулярной биоэнергетики» ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет».

В период подготовки диссертации Степанова Анастасия Евгеньевна обучалась в очной аспирантуре МарГУ, а также работала на должности преподавателя кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии.

В 2014 году Степанова Анастасия Евгеньевна окончила ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» по специальности «Биология». С 2015 по 2019 год обучалась в аспирантуре ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (профиль 03.01.02 Биофизика). Справка о периоде обучения и сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2022 году ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет».

Научный руководитель – Дубинин Михаил Васильевич, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», утвержденный приказом ректора 1505-ЛС от 25.09.2018 г. Тема диссертации утверждена приказом ректора ФГБОУ ВО МарГУ № 89-ЛС от 27.01.2016 г. Изменение названия диссертации в связи с уточнением темы диссертационной работы Степановой Анастасии Евгеньевны утверждено на заседании ученого

совета ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» приказ №13 от 27.12.2021 г.

По итогам обсуждения принято следующее заключение: Диссертация Степановой Анастасии Евгеньевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны положения, имеющие актуальное научное и практическое значение для биофизики. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора и на данных, полученных при его непосредственном участии. Эксперименты по конфокальной микроскопии митохондрий проведены совместно с к.б.н. В.А. Яшиным (ИБК РАН, Пущино). Исследования с применением липосом проведены в лаборатории митохондриального транспорта ИТЭБ РАН совместно с д.б.н. К.Н. Белослудцевым. Материалы, вошедшие в совместные публикации, обсуждались с соавторами и руководителем диссертационной работы.

При выполнении диссертационной работы проведено комплексное исследование, включающее экспериментальные, биофизические и статистические методы. Используемые в диссертации методы соответствуют поставленным целям и задачам. Достоверность результатов основана на репрезентативности выборок данных, полученных в экспериментальных сериях. Научные положения и выводы полностью обоснованы, достоверны, вытекают из результатов проведенного исследования, полноценно их отражают и получили признание в научной литературе и на научных конференциях разного уровня. Большая часть полученных результатов диссертации опубликована в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, а также в виде тезисов научных конференций.

Полученные экспериментальные данные обладают научной новизной. Впервые показано, что продукты ω -окисления пальмитиновой кислоты (ω -гидроксипальмитиновая (ГПК) и α,ω -гексадекандикарбоновая кислоты (ГДК) способны индуцировать Ca^{2+} -зависимую агрегацию эритроцитов в суспензии, которая сопровождается нарушением проницаемости клеточных мембран. Установлено, что ГПК и ГДК также способны индуцировать циклоспорин А (ЦсА)-нечувствительную агрегацию митохондрий печени крыс в присутствии ионов Ca^{2+} , которая сопровождается их пермеабиллизацией. Выявлены условия необходимые для проявления эффекта продуктов ω -окисления пальмитиновой

кислоты как индукторов такой агрегации и пермеабилзации. Получены условия, при которых в ходе индукции этих процессов происходит выход из митохондрий проапоптотического белка цитохрома *c*. Показано, что митохондрии сердца крысы также подвергаются ЦсА-нечувствительной ГДК/ Ca^{2+} -индуцируемой пермеабилзации, однако по сравнению с митохондриями печени, а также почек, это набухание имеет меньшую амплитуду и скорость. Выяснено, что чувствительность митохондрий печени крысы к индукции ГДК/ Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации усиливается с возрастом. Установлено, что ГПК и ГДК способны индуцировать Ca^{2+} -зависимую агрегацию и пермеабилзацию липосом для флуоресцентного зонда сульфородамина В.

Научно-теоретическая и практическая значимость работы.

Научные результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, прежде всего, имеют фундаментальное значение для биологической науки. Они расширяют и углубляют представление о механизмах функционирования митохондрий в норме и патологии. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в фундаментальных исследованиях в области биохимии, биоэнергетики, биофизики, клеточной патофизиологии и экспериментальной медицины, поскольку, к настоящему времени показано, что явление пермеабилзации биологических мембран и, в частности, внутренней мембраны митохондрий может быть вовлечено в индукцию целого ряда патофизиологических явлений, таких как ишемия, нейродегенеративные заболевания, диабет и другие. Кроме того, известно, что уровень продуктов ω -окисления жирных кислот в клетках печени существенно повышается при некоторых патологических явлениях (ожирение, голодание, сахарный диабет и др.).

Работа Степановой А.Е. соответствует паспорту специальности 1.5.2 – Биофизика, в частности, пункту 2 – Биофизика клетки: биофизика мембран; биоэнергетика (биологические науки). В работе использованы как классические, так и современные методы биофизики: спектрофотометрия, флуориметрия, электронная микроскопия, конфокальная микроскопия, метод динамического рассеяния света, кондуктометрия.

По теме диссертационной работы опубликовано 11 работ, в том числе 4 научные статьи в ведущих научных журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Статьи в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus

1. Дубинин М.В., Степанова А.Е., Щербаков К.А., Самарцев В.Н.,

- Белослудцев К.Н. Индукция Ca^{2+} - зависимой агрегации и пермеабилзации эритроцитов ω -гидроксипальмитиновой и α,ω -гексадекандиовой кислотами. Биофизика. 2016. Т. 61. Вып. 5. С. 916 - 921.
2. Dubinin M.V., Samartsev V.N., **Stepanova A.E.**, Khoroshavina E.I., Penkov N.V., Yashin V.A., Starinets V.S., Mikheeva I.B., Gudkov S.V., Belosludtsev K.N. Membranotropic effects of ω -hydroxypalmitic acid and Ca^{2+} on rat liver mitochondria and lecithin liposomes. Aggregation and membrane permeabilization. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. 2018. V. 50. P. 391-401.
 3. Дубинин М.В., Теньков К.С., Старинец В.С., **Степанова А.Е.**, Белослудцев К.Н., Самарцев В.Н. Возрастная и тканевая особенности индукции α,ω -гексадекандикарбоновой кислотой кальций-зависимой пермеабилзации митохондрий крыс. Журнал Эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. Т. 55. №1. С. 73-75.
 4. Дубинин М.В., Самарцев В.Н., **Степанова А.Е.**, Семенова А.А., Хорошавина Е.И., Белослудцев К.Н. Сравнительное исследование эффектов пальмитиновой и ω -гидроксипальмитиновой кислот как индукторов Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации митохондрий печени и лецитиновых липосом. Биофизика, 2019, том 64, № 6, с. 1115–1123.

Материалы диссертационной работы представлены на 5-ой и 8-ой международных конференциях «Современные проблемы медицины и естественных наук» (Йошкар-Ола, 2016, 2019 г.); XI международном симпозиуме «Биологическая подвижность» (Пушино, 2016 г.); 69-ой и 72-ой Всероссийских школах-конференциях молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2016, 2019); VI съезде биофизиков России (Сочи, 2019).

Тезисы докладов, индексированные в РИНЦ

1. Степанова А.Е., Дубинин М.В., Самарцев В.Н. Влияние сфингозина на стимуляцию дыхания митохондрий печени продуктами ω -окисления жирных кислот // Сборник тезисов 20-ой международной Пуштинской школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века». - Пушино, 2016. - С. 188-189.
2. Дубинин М.В., **Степанова А.Е.**, Хорошавина Е.И., Самарцев В.Н. Пермеабилзация биологических мембран продуктами ω -окисления жирных

- кислот. Роль в патологии // Сборник статей Международной научной конференции Современные проблемы медицины и естественных наук. - Йошкар-Ола, 2016. - С. 85-88.
3. Dubinin M.V., Scherbakov K.A., **Stepanova A.E.**, Belosludtsev K.N., Kondratyev M.S., Samartsev V.N. Products of fatty acids ω -oxidation as inducers of Ca^{2+} -dependent aggregation and permeabilization of red blood cells // Biological Motility. – Pushchino, 2016. – С. 54-57.
 4. Дубинин М.В., **Степанова А.Е.**, Рыбакова А.Н., Самарцев В.Н. Влияние продуктов ω -окисления жирных кислот на Ca^{2+} -зависимую проницаемость мембраны эритроцитов // Сборник тезисов 69-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». - Н. Новгород, 2016. – С. 47.
 5. **Степанова А.Е.**, Самарцев В.Н., Дубинин М.В. Влияние продуктов омега-окисления жирных кислот на проницаемость биологических и искусственных липидных мембран // Сборник тезисов 72-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». - Н. Новгород, 2019. – С. 214.
 6. **Степанова А.Е.**, Самарцев В.Н., Белослудцев К.Н., Дубинин М.В. Изучение влияния продуктов омега-окисления пальмитиновой кислоты на проницаемость биологических и искусственных липидных мембран // Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России: в 2 томах, том 1 – Краснодар, 2019. – С. 192-193.
 7. **Степанова А.Е.**, Белослудцев К.Н., Дубинин М.В. Изучение влияния ω -гидроксипальмитиновой кислоты на проницаемость биологических и искусственных мембран // Сборник статей Международной научной конференции Современные проблемы медицины и естественных наук. - Йошкар-Ола, 2019. - С. 164-166.

Таким образом, требования по полноте опубликования основных научных результатов соблюдены. Препятствий по критериям «Опубликованность», «Количество статей в рецензируемых журналах», «Количество рецензируемых журналов» - для принятия диссертации к публичной защите нет. Диссертация соответствует всем требованиям п. 2 постановления «О порядке присуждения ученых степеней».

Учитывая актуальность диссертационной работы Степановой Анастасии

Евгеньевны, ее научную значимость и новизну полученных результатов, высокий теоретический и экспериментальный уровень работы, аргументированность заключения, расширенное заседание кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии Института естественных наук и фармации считает, что диссертационное исследование «Ca²⁺-зависимая агрегация и пермеабиллизация биологических и искусственных мембран продуктами ω-окисления жирных кислот: механизмы и возможная роль в патологии клетки» является научно-квалификационной работой в которой решены задачи, результаты которых расширяют и углубляют представления о механизмах влияния свободных жирных кислот на проницаемость биологических и искусственных мембран.

Диссертация Степановой Анастасии Евгеньевны на тему: «Ca²⁺-зависимая агрегация и пермеабиллизация биологических и искусственных мембран продуктами ω-окисления жирных кислот: механизмы и возможная роль в патологии клетки» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика.

Заключение принято на заседании кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии Института естественных наук и фармации ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет».

Присутствовало на заседании 13 (тринадцать) человек, из них с правом решающего голоса 13 (тринадцать) специалистов.

Результаты голосования: «за» - 13 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол №6 от 11 января 2022 г.

Председатель заседания,
заведующий кафедрой биохимии,
клеточной биологии и микробиологии
к.б.н., доцент


Г.П. Дробот

Секретарь кафедры биохимии,
клеточной биологии и микробиологии,
специалист по УМР


И.А. Николаева

