

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии»
(ФГБНУ ВНИИСБ)**

127550, г. Москва
ул. Тимирязевская, д. 42

тел. 8-499-976-65-44, факс 8-499-977-09-47
e-mail: iab@iab.ac.ru

01.12.2017 № _____

На № _____ от _____

ОТЗЫВ

**На диссертацию Эльдарова Чупалава Максудовича
«Возраст-зависимые изменения митохондрий. Ультраструктурное исследование»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.04 — Клеточная биология, цитология, гистология**

Диссертационная работа Чупалава Максудовича Эльдарова посвящена получению новых данных в подтверждение одной из современных теоретических концепций механизмов и процессов, связанных со старением на клеточном и субклеточном уровнях организации тканей живых организмов, а также поиску методических подходов к контролю средств применяемых для регуляции скорости этого динамического процесса.

Несмотря на интенсивные исследования в биологии старения с применением современных возможностей молекулярных, биохимических и гистологических методов, в исследованиях возраст-зависимых изменений, одна из главных ролей принадлежит трансмиссионной электронной микроскопии, в связи с тем, что изменения ультраструктуры клеточных органелл, таких как ответственные за энергетические процессы в клетках животных - митохондрии можно констатировать, до выявления вызываемых ими изменений на морфологическом, биохимическом, физиологическом уровнях. В то же время консервативный метод, при котором сравнительная визуальная идентификация ультраструктурных изменений каждого клеточного компартмента и субдомена является наиболее эффективным подтверждением данных по изучению преобразований метаболических и генетических событий в клетках при старении. В настоящее время картина возраст-зависимой модификации структурной организации на уровне клеток и клеточных доменов остается малоизученной.

Исследование этой проблемы в ракурсе роли АФК в возраст-зависимых изменениях структурно-функционального состояния митохондрий имеет особое значение, так как позволяет экстраполировать полученные на тканях грызунов на аналогичные процессы у других млекопитающих в частности у человека.

С приведённой выше точки зрения, очевидно, что диссертационная работа Чупалава Максудовича Эльдарова является, несомненно актуальной как теоретическом, так и в практическом смысле, в связи с тем, что продление срока жизни человека является важным для современной цивилизации, для которой гуманитарные ценности продолжительности жизни индивидуальной личности человека представляются нормой и достойной целью.

Обзор литературы рассматривает ряд актуальных теоретических представлений о различных механизмах контроля старения, в основном касающихся клеток млекопитающих. Особое внимание уделено аспектам предполагаемой первостепенной роли митохондрий в процессах старения.

Основная цель диссертационной работы – исследование структурно-функциональных характеристик митохондрий для выявления и характеристики возраст-зависимых закономерностей преобразования ультраструктуры митохондриального аппарата клетки на различных экспериментальных моделях. Для этого были сформированы следующие задачи: установить закономерности преобразования ультраструктуры митохондриального аппарата поперечно-исчерченной мышечной ткани в условиях нормального физиологического старения у крыс; исследовать изменения ультраструктуры митохондриального аппарата поперечно-исчерченных мышц у голого землекопа (*Heterocephalus glaber*) различного возраста; исследовать изменение ультраструктуры слезной железы в условиях нормального физиологического старения. Оригинальность поставленной задачи обусловлена выбором объектов – крыс Wistar и OXYS, а также модели старения при воздействии митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1. Цель и задачи исследования обоснованы и предложенный подход представляется эффективным и адекватным для их решения.

Новизна диссертационной работы определяется необходимостью дополнения приводящихся в данном направлении исследований, детальными и подробными данными, касающимися преобразований структурной организации митохондрий, как основных «энергетических» машин клетки с учетом их АФК-зависимых повреждений и в связи с возрастными параметрами тканей различающихся по возраст-зависимому преобразованию митохондрий и связанных с ними компарментов.

С точки зрения методических подходов работа выполнена с использованием классических ортодоксальных техник на высоком современном уровне, позволяющим полностью решить поставленные задачи. Особое место уделено морфометрии объектов, позволяющей корректно преобразовать качественные визуальные наблюдения в количественные данные. Подобный комплексный тщательно взвешенный подход, в купе с оригинальным подбором объектов позволил провести детальный анализ структурно-функциональных преобразований мембран и в целом хондриома важных для жизнедеятельности организма тканей.

Результаты, полученные в настоящей диссертационной работе доказательно демонстрируют важную роль хондриома в старении, а также вызываемые им качественные изменения структуры, расположения и формы отдельных митохондрий при протекающих возраст-зависимых изменениях тканей. Несомненным достоинством диссертационной работы является использование сравнимых объектов различного происхождения и генотипа, являющихся признанными модельными объектами в работах данной тематики.

Большая часть экспериментальных данных посвящена изучению возраст-зависимых модификаций митохондрий в клетках различных тканей млекопитающих, что позволяет предполагать, что полученные результаты могут быть надежно экстраполированы на исследования тканей человека.

Обсуждение результатов выполнено корректно и доказательно, с качественным анализом данных других авторов, работающих в данной области исследований.

В рамках поставленных в работе задач были установлены ряд закономерностей, связанных с изменением общего количества, размеров, формы, расположения крист и особенностей внутренней мембраны в различных клетках грызунов и человека. Это позволило сделать ряд существенных выводов, из них наиболее значимыми представляются следующие:

- 1) При нормальном физиологическом старении, у крыс Wistar, мышей C57BL/6, в ткани миокарда происходит снижение количества митохондрий и увеличение их размеров.
- 2) Ускоренное старение в условиях повышенной генерации АФК у крыс OXYS приводит к обратному эффекту: в кардиомиоцитах увеличивается количество митохондрий и снижаются их размеры.

3) В кардиомиоцитах крыс Wistar и OXYS, а также мышцей C57BL/6 показано снижение с возрастом поверхностной плотности внутренней мембраны митохондрий, которое более выражено у крыс OXYS.

4) Выявлены закономерности развития возраст-зависимых изменений ультраструктуры хондриома скелетной мышцы.

5) Выявлена практически полная деградация ацинарных клеток и сильное разрастание протоков слезной железы в условиях нормального и ускоренного старения, у крыс Wistar и OXYS, соответственно. Ультраструктура митохондрий ацинарных клеток с возрастом меняется незначительно.

Таким образом, в результате проведенного исследования получена новая информация о возраст-зависимых изменениях структурной организации хондриома и ультраструктурной организации митохондрий, позволяющая не только глубже понять структурные преобразования, сопровождающие изменения связанные с механизмами старения, но и впервые достаточно подробно описать и охарактеризовать эти данные количественно. Полученные в диссертационной работе данные могут быть использованы для анализа и разработки методических подходов, разработки препаратов по предотвращению ускоренного старения и увеличения продолжительности жизни различных организмов, также использовать их в учебном процессе, при преподавании спецкурсов по клеточной биологии и физиологии в программах обучения студентов биофака МГУ.

Структура диссертации соответствует установленным требованиям и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения результатов, заключения, списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 235 страницах, включает 151 рисунок. Список литературы представлен 231 источником, в том числе 20 отечественных и 211 зарубежных.

Результаты работы изложены четко, хорошо проиллюстрированы и достаточно аргументированы. Статистический анализ проведен с использованием общепринятых методик на высоком уровне, достоверность полученных результатов сомнений не вызывает. Автореферат диссертации полностью соответствует ее содержанию и отражает общую картину исследования.

Замечания.

Наряду с этим в работе недостаточное внимание уделено ряду важных вопросов. Так в обзоре литературы, мало отражены аспекты старения у других организмов в частности одноклеточных, в том числе претендующих на роль предшественников митохондрий – как считается древних эндосимбионтов, других одноклеточных организмов, в том числе содержащих митохондрии, в то время как это позволяет взглянуть на изучаемый феномен с эволюционной точки зрения. Еще одним недостатком работы является избыточное внимание уделяемое митохондриям, в то время как очевидные отличия (наблюдаемые на приведенных фотографиях) в эндоплазматическом ретикулуме, расположении микрофибрилл и изменения структуры внутренней мембраны наталкивают на мысль, что могут иметь место процессы нарушения таргетинга и, весьма вероятно, синтеза структурных и функциональных белков как связанных с энергетическим метаболизмом напрямую, так и оказывающих влияние опосредованно. Кроме того, представляется преждевременным однозначное утверждение о нарушении целостности оболочки ядра и высказанное предположение о альтернативном попадании митохондрий в ядро при разрушении оболочки, так как доказательство этого процесса можно получить лишь продемонстрировав динамику на модельном объекте или исключив нарушение ядерной мембраны при делении в процессе формирования ткани или при искусственном ускорении старения. Альтернативным методом доказательства (но не абсолютным) могло бы стать выявление изменения значений pH, которые, как известно, различаются в цитоплазме и ядре на образцах живых клеток.

Указанные замечания являются несущественными и не умаляют качества диссертационной работы.

Диссертационная работа Эльдарова Чупалава Максудовича на тему «Возраст-зависимые изменения митохондрий. Ультраструктурное исследование» представляет собой законченное научное произведение, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения с возможностью интересного и в перспективе широкого практического применения. Данная работа имеет важное значение для развития одного из направлений науки о старении, нацеленных на выявление митохондриально-зависимого структурно обусловленного функционального контроля клеточного старения дифференцированных тканей.

Таким образом, актуальность темы исследования, методический уровень и объем проведенных экспериментов, их научная новизна, теоретическая значимость и практическая ценность полученных результатов полностью соответствует критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», утвержденного Ректором Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова от 27 октября 2016, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Эльдаров Чупалав Максудович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент - к.б.н., вед. научн. сотр. лаборатории клеточной биологии ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии ФАНО РФ
Адрес: 127550, Москва, Тимирязевская ул., д.42;
e-mail: greenpro2007@rambler.ru

/Е.Н. Баранова

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии»
Подпись кандидата биологических наук
Екатерина Николаевна Барановой заверяю.
Ученый секретарь ФГБНУ ВНИИСБ
к.б.н. Федина Е.И.

