

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Гриневича Андрея Анатольевича ДИНАМИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРНЫХ УРОВНЯХ:

ОТ НИЗКОЧАСТОТНОЙ МОДУЛЯЦИИ К АНАЛИЗУ ДВИЖЕНИЯ КИНКОВ,
представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук
по специальности 1.5.2. – Биофизика

Общей целью биофизических исследований является изучение механизмов функционирования и регулирования процессов в живых организмах на всех уровнях их организации – от молекулярного и клеточного, до уровня целого организма. «Биологически целесообразное» поведение определяется структурой элементов сложной биологической системы, динамическими свойствами ее структурных компонентов и их взаимодействием в сложном интерьере клетки, субклеточной системы, органа, организма. Оценка динамических характеристик на различных структурно-функциональных масштабах системы представляет одну из сложнейших задач биофизики. Диссертационная работа А.А. Гриневича демонстрирует, что на современном уровне развития техники эксперимента, методов математического моделирования и информационных технологий эту задачу в ряде случаев удается решить.

Работа посвящена выявлению механизмов связи динамики биофизических процессов и их специфических регуляторных свойств с функциональными свойствами биологической системы на различных структурных уровнях. Рассмотрены закономерности динамической регуляции ритмов в сердечно-сосудистой системе человека, динамические особенности регуляции фагоцитарного ответа гранулоцитов на микробную провокацию при сахарном диабете 2-го типа, регуляторная динамика воротного механизма одиночного ионного канала в биологической мембране при воздействии трансмембранного электрического потенциала, солитоноподобная динамика азотистых оснований в ДНК и их связь с функционально значимыми участками и динамической регуляцией экспрессии генов. Все эти явления изучены экспериментально, и для них построены математические модели с использованием физических аналогов. Для использования при моделировании биологических систем базовая физическая модель требует существенного усложнения, введения биофизических элементов регуляции. Модель обязательно должна содержать переменные, доступные для экспериментального наблюдения, иначе невозможна верификация модели. Конечно, динамика переменных в сложных моделях биологических структур может быть воспроизведена только в компьютерных экспериментах. Однако при наличии «физического остова» модель позволяет получить «ожидаемые» ответы. Так, в работе А.А. Гриневича базовая физическая модель, описывающая биофизические процессы на уровне организма, позволяет ожидать возможности амплитудной модуляции сердечного ритма более низкочастотным ритмом дыхательной системы. Детальная биофизическая модель дает

возможность проследить механизмы взаимосвязи и особенности регуляции этих систем в нестационарных условиях (напряженный режим дыхания). На молекулярном уровне, механистический аналог ДНК, предложенный диссертантом в модели неоднородной ДНК, также оказался простым в сравнении с полноатомными моделями и удобным инструментом для выявления новых аспектов формирования и динамики локально расплетенных участков двойной спирали ДНК (открытых состояний) в зависимости от функциональной значимости участков последовательности, таких как промотор, кодирующая область и терминатор.

Таким образом, в диссертационной работе с помощью моделей описаны регуляторные механизмы функционирования биологических систем, которые определяются динамикой их структурных компонентов. Проведена оценка динамических параметров компонентов системы путем анализа отклика системы на периодические и аperiodические воздействия.

Работа, несомненно, представляет собой фундаментальное исследование, актуальность и практическая значимость работы не вызывает сомнений.

Работа очень объемная, содержит 330 стр. текста, 76 рисунков, 21 таблицу. Это соответствует широте тематики, представленной в исследованиях автора. Кроме обязательных Введения, Заключения и Выводов работа включает два больших раздела: Литературный обзор (80 стр), Результаты и обсуждение (150 стр). В каждом из этих разделов представлен материал по всем объектам изучения. Список литературы содержит 521 источник.

Литературный обзор (глава II) представляет самостоятельный интерес. В нем обсуждаются общие аспекты регуляции процессов в живых системах. Автор дает классификацию биофизических механизмов регуляции, которые позволяют системе функционировать в благоприятных условиях и компенсировать воздействия, оказываемые на биологическую систему со стороны окружающей среды. Обсуждаются типы и даются примеры динамической регуляции. Разработанные автором на основе физических аналогов модели позволяют не только воспроизвести динамические режимы функционирования систем разной природы и масштаба, но и использовать ответы систем для оценки динамических характеристик их структурных компонентов.

В главе III общая методология применяется автором для исследования регуляторных процессов в конкретных системах.

Раздел III.1 посвящен изучению вопросов кровотока в сердечно-сосудистой системе человека. Сердечно-сосудистая система демонстрирует классический пример колебательной динамики. Колебания кровотока наблюдаются в широком диапазоне частот, их вариабельность обеспечивает адаптацию сердечно-сосудистой системы к внешним и внутренним воздействиям. Изучению и моделированию этих процессов посвящены тысячи работ.

В диссертации рассмотрены две конкретные проблемы, продвинувшись в изучении которых позволил подход, основанный на рассмотрении физических аналогов системы и применении методов теории колебаний. Автором изучены механизм динамической регуляции сердечного ритма при

резонансно подобном низкочастотном отклике сердечно-сосудистой системы при респираторной синусовой аритмии. Сопоставление данных моделирования с результатами экспериментов по контролю частоты дыхания позволило установить существование обратной степенной зависимости параметров симпатической и парасимпатической регуляции сердечного ритма от характеристик сигнала респираторного водителя ритма.

На основе гидродинамического аналога течения ньютоновской жидкости через замкнутый контур связанных эластичных резервуаров разработана математическая модель колебаний кровотока в микроциркуляторном русле при стохастических воздействиях. С помощью математического моделирования показано, что существует динамическая связь между активностью сердца и низкочастотными колебаниями кожного кровотока, которая базируется на гидродинамических свойствах сосудистого русла. Эта связь свидетельствует о возможности регуляторного воздействия центральных механизмов на локальную регуляцию микрогемодинамики, в том числе возможности обеспечивать фазовую синхронизацию изменений капиллярного кровотока, которая, согласно многочисленным экспериментальным данным, может возникать между органами, далеко отстоящими друг от друга (например, между пальцами правой и левой руки).

В разделе III.2 «Моделирование фагоцитарного ответа гранулоцитов на микробные частицы» автором разработана математическая модель 4-х стадийного фагоцитарного ответа гранулоцитов на микробную провокацию, учитывающая активацию и функционирование NADPH-оксидазы. На модели показано, что респираторный взрыв нейтрофилов, который является функциональным ответом этих клеток на инфекционное заражение организма, экспериментально моделируемое добавкой в образец крови опсонизированного зимозана, значительно повышен в условиях хронической гипергликемии, связанной с метаболическими расстройствами. При этом модель предсказывает какие нарушения механизма регуляции функционирования NADPH-оксидазы могут быть ответственными за такое повышение ответа. Диссертант делает смелое предположение, что выявленные регуляторные нарушения являются одной из ключевых причин поддержания хронического окислительного стресса при метаболических расстройствах, приводящего к осложнениям и нарушениям регуляторных механизмов в периферической микрогемодинамики на молекулярно-клеточном уровне.

Раздел III.3 посвящен моделированию одиночного ионного канала в биологической мембране.

На основе механической модели воротного механизма одиночного ионного канала, учитывающей динамическую регуляцию скорости вытеснения молекул воды из гидрофобной поры канала и ее зависимость от трансмембранного электрического потенциала, показана динамическая связь между гидрофобным вытеснением воды из поры канала и формированием немарковской кинетики ионного тока через канал при разных значениях электрического трансмембранного потенциала. Это интересный этап исследований, который позволил автору еще больше погрузиться в многообразие регуляторных биофизических процессов на молекулярном уровне, связанных с таким

широким классом мембранных белков, как ионные каналы. Важность этих исследований, на мой взгляд, заключается в том, что эта регуляция затрагивает не только внутриклеточную и межклеточную сигнализацию, но и функционирование более высоко организованных структур, таких как сердечно-сосудистая система, или нервная система. Уникальность полученного диссертантом результата в том, что показан конкретный механизм, показывающий как внутримолекулярная структурная особенность (гидрофобность поры) определяет изменение функциональной активности канала при изменении стимула на макромасштабе (секунды, десятки секунд). Это может быть важным в поиске решений по лечению различного рода каналопатий.

В разделе III.4 рассматривается математическая модель ДНК, которая, в отличие от классической модели Ингландера и ее модификаций, учитывает неоднородную структуру молекулы. С помощью модели и разработанного метода траекторий исследована динамика локально расплетенных участков ДНК, которые моделировались односолитонными решениями (кинками). Показана зависимость динамики кинков от функционально значимых участков в ДНК и внешнего торсионного момента, определяющая динамическую регуляцию экспрессии генов в процессе транскрипции. Выполнен расчет энергетического профиля плазмиды pPF1 и различных ее модификаций, полученных путем интегрирования в, расположенную между двумя генами белков Egfp и mCherry область небольших фрагментов *Escherichia coli*, взятых из так называемых промоторных островов – областей, высоко насыщенных промоторо-подобными участками. Результаты моделирования динамики кинка на последовательностях ряда плазмид показали, что эффективность транскрипции в заданном направлении синтеза РНК зависит от энергии активации кинка в матричной нити. Внешние воздействия на открытые состояния в ДНК играют важную роль в их динамическом поведении. Тепловые флуктуации могут приводить к спонтанным переходам открытых состояний между однородными участками в последовательности, а торсионный момент к детерминистическому контролю их динамического поведения, что определяет динамическую регуляцию экспрессии генов. В целом, по этому разделу можно сказать, что в рамках того направления, которое в диссертации определяется как динамическая регуляция, и учитывая, что молекула ДНК определяет базовую регуляцию конститутивной метаболической сети организма с одной стороны, и участвует в определении стратегии поведения организма при внешних воздействиях с другой стороны, результаты, полученные диссертантом, имеют несомненную фундаментальную значимость в контексте регуляции динамики открытых состояний.

Следует сделать некоторые критические замечания.

1. Структуру работы, можно было бы сделать более простой. Понятно, что автор хотел подчеркнуть единство метода физических аналогий в применении к моделированию процессов разной природы. Но каждая из моделей представляет самостоятельный интерес, и следовало бы представить читателю возможность знакомиться с моделями отдельных объектов в отдельных

главах. Может быть, лучше было бы литературный обзор по каждой теме предпослать обсуждению результатов по этой теме. А единству подходов к изучению объектов разной природы посвятить общее обсуждение. В этом смысле автореферат, на мой взгляд, сформирован более удачно.

2. В подразделе III.1.2 «Моделирование низкочастотных колебаний кровотока в микроциркуляторном русле (МЦР) при стохастических воздействиях» используется белый шум с ограниченной полосой частот в качестве воздействия. Известно, что белый шум имеет бесконечную полосу частот. А если полоса частот ограничена, то это уже не белый шум, а какой-то другой.
3. В разделе III.3 «Моделирование одиночного ионного канала в биологических мембранах клетки» для ускорения расчетов приводится оригинальная перенормировка параметров, где температура становится близкой к абсолютному нулю. Возникает вопрос о воспроизводимости результатов при нормальном для биологических процессов значении температуры 300 К.
4. В заключение разделов, посвященных отдельным биологическим объектам, в диссертации следовало бы дать короткое обсуждение, включающее сравнительный анализ и связь полученных автором результатов с результатами, опубликованными в последних работах. Например, раздел III.3 посвящен модели переключения одиночного ионного канала между открытым и закрытым состояниями. В последние годы опубликовано большое число работ по моделированию конформационных переходов ионных каналов разных типов методами молекулярной динамики. Надо было бы обсудить, на какие вопросы отвечает значительно более «экономная» модель автора, а где оказывается необходимо молекулярное рассмотрение.
5. В диссертации имеются опечатки и стилистические ошибки.

Указанные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

В целом работа представляет собой отличный пример моделирования сложных живых систем разного уровня, для которых могут быть предложены аналоги физических моделей, базовые динамические свойства которых изучены применительно к физическим системам. Используемый в работе широко применяемый в физике метод оценки динамических параметров системы по ее отклику на периодические воздействия позволил автору провести оценки динамических характеристик структурных элементов сложных живых систем. Математическое моделирование вносит ценный вклад в изучение динамики биологических систем разной природы, проясняя механизмы, лежащие в основе функционирования системы, и проверяя имеющиеся гипотезы.

Выполнен очень большой объем работы, автор демонстрирует глубокие знания предмета исследования и высокую квалификацию в области математического моделирования. Каждый их разделов диссертации, как и работа в целом, имеет несомненное практическое значение.

Автором опубликовано 43 статьи в отечественных и зарубежных рецензируемых научных журналах, из них по теме диссертации 20, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI и РИНЦ. Также опубликована 1 монография и получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Результаты работы представлены на многочисленных международных и Российских конференциях.

Диссертационная работа А.А. Гриневича соответствует всем критериям пунктов 9-11,13,14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от ред. от 18.03.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор, Гриневич Андрей Анатольевич, заслуживает присуждения ему учёной степени доктора физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Официальный оппонент:

Ризниченко Галина Юрьевна

 Подпись

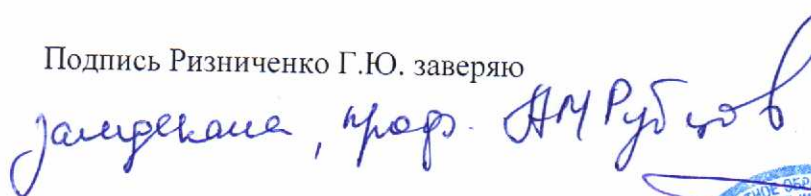
доктор физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика, профессор, профессор кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ

тел.: +7 (903) 977-35-20

Эл. почта: riznich46@mail.ru

06.02.2024

Подпись Ризниченко Г.Ю. заверяю

 Галина Юрьевна, проф. Г.Ю. Ризниченко



 6

Сведения об оппоненте

Ризниченко Галина Юрьевна

Ученая степень, звание: доктор физико-математических наук (специальность 1.5.2. – Биофизика), профессор.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет.

Должность: профессор.

Адрес организации: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ.

Адрес эл. почты организации: info@rector.msu.ru

Телефон/Факс: (985) 9806282

Сайт организации: <https://www.msu.ru/>

Адрес электронной почты оппонента: riznich46@mail.ru

Научные публикации оппонента

по тематике диссертационного исследования за последние пять лет:

1. Khruschev S.S., Plyusnina T.Y., Antal T.K., Pogosyan S.I., Riznichenko G.Y., Rubin A.B. Machine learning methods for assessing photosynthetic activity: environmental monitoring applications. // *Biophysical Reviews*. 2022. V. 14. P. 821–842.
2. Riznichenko G.Y., Antal T.K., Belyaeva N.E., Khruschev S.S., Kovalenko I.B., Maslakov A.S., Plyusnina T.Y., Fedorov V.A., Rubin A.B. Molecular, Brownian, kinetic and stochastic models of the processes in photosynthetic membrane of green plants and microalgae. // *Biophysical Reviews*. 2022. V. 14. P. 985–1004.
3. Беляева Н.Е., Булычев А.А., Пащенко В.З., Клементьев К.Е., Ермаченко П.А., Конюхов В.И., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Динамика процессов в тилакоидных мембранах водорослей *in vivo*, изучаемая в моделях фотосистемы II и тилакоида по измерениям индукции флуоресценции. // *Биофизика*. 2022. Т. 67. № 5. С. 1-20.
4. Plyusnina T.Y., Khruschev S., Fursova P.V., Solovchenko A.E., Antal T.K., Riznichenko G.Y., Rubin A.B. Simulating the interplay between the uptake of inorganic phosphate and the cell phosphate metabolism under phosphorus feast and famine conditions in *Chlorella vulgaris*. // *Cells*. 2021. V. 10. P. 3571.
5. Ризниченко Г.Ю., Беляева Н.Е., Дьяконова А.Н., Коваленко И.Б., Маслаков А.С., Антал Т.К., Горячев С.Н., Плюснина Т.Ю., Федоров В.А., Хрущев С.С., Рубин А.Б. Модели фотосинтетического электронного транспорта. // *Биофизика*. 2020. Т. 65. № 5. С. 886-902.
6. Plyusnina T., Khruschev S., Degtereva N., Konyukhov I., Solovchenko A., Kouzmanova M., Goltsev V., Riznichenko G., Rubin A. Gradual changes in the photosynthetic apparatus triggered by nitrogen depletion during microalgae cultivation in photobioreactor. // *Photosynthetica*. 2020. V. 58. P. 443-451.
7. Belyaeva N.E., Bulychev A.A., Riznichenko G.Y., Rubin A.B. Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll a fluorescence and P700 absorbance changes

- in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model. // *Photosynthesis Research*. 2019. V. 140. P. 1–19.
8. Fedorov V.A., Kovalenko I.B., Khruschev S.S., Ustinin D.M., Antal T.K., Riznichenko G.Y., Rubin A.B. Comparative analysis of plastocyanin-cytochrome f complex formation in higher plants, green algae and cyanobacteria. *Physiologia Plantarum*. 2019. V. 166. No. 1. P. 320-335.
 9. Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Фролов А.Е., Дегтерева Н.С., Конюхов И.В., Погосян С.И., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Мониторинг фотосинтетической активности культуры микроводорослей *Chlorella* при истощении азота в среде. // *Биофизика*. 2019. Т. 64. № 3. С. 468-477.
 10. Riznichenko G.Y., Kovalenko I.B. Multiparticle models of brownian dynamics for the description of photosynthetic electron transfer involving protein mobile carriers. // *International Journal of Applied Research in Bioinformatics*. 2019. V. 9. No. 1. P. 1-19.
 11. Antal T.K., Maslakov A., Yakovleva O.V., Krendeleva T.E., Riznichenko G.Y., Rubin A.B. Simulation of chlorophyll fluorescence rise and decay kinetics, and P700-related absorbance changes by using a rule-based kinetic Monte-Carlo method. // *Photosynthesis Research*. 2018. V. 138. No. 2. P. 191-206.