

УТВЕРЖДАЮ



Председатель секции «Биоэнергетика»
Ученого совета ИТЭБ РАН,

зам. директора,

к.б.н.

Круглов А.Г. Круглов

« 10 » декабря 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук

Диссертационная работа «Защитное действие астаксантина при дисфункции в митохондриях сердца крыс и в кардиомиоцитах линии Н9с2» выполнена в Лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН). В период подготовки диссертации Крестинин Роман Русланович работал в Лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности в должности лаборанта исследователя, затем младшего научного сотрудника.

В 2018 году Крестинин Роман Русланович закончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» по направлению подготовки Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии (диплом бакалавра 107718 0953789, рег. номер 971, выдан 29.06.2018). С 2018 по 2020 гг. обучался в магистратуре Пущинского государственного естественно-научного института по направлению «Биология» (диплом магистранта 105024 3987394, рег. номер 1113, выдан 20.07.2020). С 2020 по 2022 гг. обучался в очной аспирантуре ИТЭБ РАН по специальности «Биофизика». Диплом об окончании аспирантуры 105024 6001268, рег. номер 0015, выдан 12.08.2024 Научно-образовательным центром ИТЭБ РАН.

Научный руководитель: кандидат биологических наук Крестинина Ольга Владимировна, ведущий научный сотрудник Лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН.

По итогам обсуждения материалов диссертации «Защитное действие астаксантина при дисфункции в митохондриях сердца крыс и в кардиомиоцитах линии H9c2» принято следующее **заключение**:

Оценка выполненной работы. Диссертация Крестинина Р.Р. является научно-квалификационной работой и посвящена изучению защитного действия астаксантина *in vivo* и *in vitro* от повреждений, вызванных изопротеренолом в митохондриях сердца крыс и индукторами клеточной гибели (пероксидом водорода и доксорубицином) в кардиомиоцитах линии H9c2. Результаты диссертационной работы убедительно показывают, что астаксантин оказывает защитное действие на функциональное состояние митохондрий сердца крыс при изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункции, что характеризуется повышением дыхательного контроля, активности комплексов ЭТЦ, мембранного потенциала и устойчивостью к Ca^{2+} нагрузке. Астаксантин предотвращает вызванные изопротеренол-индуцированным воздействием изменения в содержании прохИБитина-2 и белков, участвующих в процессах слияния, деления и митофагии (Mfn2, DRP1, PINK1, Parkin). Получены доказательства, что в митохондриях прохИБитин является потенциальной мишенью защитного действия астаксантина, направленного на восстановление процесса митофагии. Так же в работе показано, что астаксантин предотвращает повышение содержания цитозольного Ca^{2+} и продукции АФК, падение мембранного потенциала, изменение содержания белков-маркеров митофагии и снижение жизнеспособности кардиомиоцитов линии H9c2 и митохондриальной массы, вызванные действием индукторов клеточной гибели, такими как пероксид водорода и доксорубицин. Работа отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Минобрнауки Российской Федерации к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Все результаты, представленные в работе, получены при личном участии автора, а также при его участии в постановке задач, выборе методов и протоколов исследований, проведении экспериментов, анализе полученных результатов и доведении результатов до научного сообщества (написание тезисов, статей). При этом подготовка животных к эксперименту (введение астаксантина перорально, инъекции изопротеренола), последующее выделение митохондрий сердца крыс методом дифференцированного центрифугирования, измерение набухания митохондрий методом светорассеяния, проведение гель-электрофореза в неденатурирующих и денатурирующих условиях, измерение активности комплексов дыхательной цепи митохондрий, Вестерн-блоттинга, исследования на культуре кардиомиоцитов линии H9c2, измерения содержания цитозольного Ca^{2+} , митохондриального мембранного потенциала и продукции активных форм кислорода спектрофотометрическим методом проведены лично автором. Измерения

параметров окислительного фосфорилирования проводились совместно с к.б.н. Одиноквой И.В. на базе лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН Гистологический анализ левого желудочка сердечной ткани крысы проводились совместно с к.б.н. Фадеевой И.С. и Звягиной А.И. на базе лаборатории биомедицинских технологий ИТЭБ РАН. Исследования митохондриальной массы митохондрий в культуре кардиомиоцитов линии H9c2 методом конфокальной микроскопии проводились совместно с к.б.н. Кобяковой М.И. на базе лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН. Выявление белков методом масс спектрометрического анализа проводились совместно с к.ф.-м.н. Суриным А.К. на базе лаборатории физики белка Института белка РАН.

Степень достоверности проведённых исследований. Научные положения и выводы диссертации Крестинина Р.Р. обоснованы, достоверны и логически вытекают из полученных данных.

Научная новизна. В работе впервые было показано, что пероральное введение астаксантина улучшало параметры окислительного фосфорилирования в изолированных митохондриях сердца крыс при ИЗО-индуцированном повреждении миокарда. Астаксантин обладал защитным действием и, в частности, восстанавливал ИЗО-индуцированное нарушение митохондриальной функции, связанное с ухудшением параметров окислительного фосфорилирования митохондрий. Также были обнаружены белки как потенциальные мишени для защитного действия астаксантина в митохондриях сердца, что может играть существенную роль в восстановлении митохондриальной массы и процессов митофагии при окислительных повреждениях. В целом, полученные результаты расширяют знания о механизмах защитного действия астаксантина и могут быть использованы для развития новых терапевтических стратегий, необходимых для предотвращения развития заболеваний сердца.

Научно-практическая ценность. Полученные данные позволяют расширить знания механизмов действия астаксантина на изолированные митохондрии сердца и клетки кардиомиоцитов. Помимо этого, полученные результаты указывают на возможность защитного действия астаксантина в митохондриях. Обнаруженные эффекты позволяют рассматривать астаксантин как митохондриальный протектор в терапии патологических состояний, связанных с окислительным повреждением и митохондриальной дисфункцией, вызванных сердечной недостаточностью. В целом, полученные результаты указывают на то, что астаксантин может быть использован для развития новых терапевтических стратегий, необходимых для предотвращения развития заболеваний сердца.

Ценность научных работ соискателя, соответствие содержания диссертации специальности, полнота изложения материалов диссертации в работах,

опубликованных соискателем. Содержание диссертационной работы и опубликованные по ней материалы: 7 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе, в журналах Antioxidants (Q1, IF 6), Biomedicines (Q1, IF 3.9), Life (Q1, IF 3.2) и International journal of molecular sciences (Q1, IF 4.9), а также 7 тезисов докладов на российских и международных конференциях, соответствуют специальности 1.5.2. Биофизика. Результаты диссертационного исследования полностью изложены в опубликованных работах.

Диссертация Крестинина Романа Руслановича «Защитное действие астаксантина при дисфункции в митохондриях сердца крыс и в кардиомиоцитах линии H9c2» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Заключение принято на заседании секции «Биоэнергетика» и «Биомедицина» Ученого совета ИТЭБ РАН. Присутствовало на заседании 28 человек, в том числе 6 докторов наук и 17 кандидатов наук. Результаты голосования: «за» - 28, «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 4 от 29 ноября 2024 года.

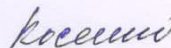
Рецензенты:

д.ф.-м.н., проф., заведующий
лабораторией тканевой инженерии



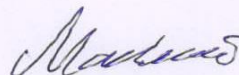
Акатов В.С.

д.б.н., главный научный сотрудник
лаборатории клеточной инженерии



Косенко Е.А.

д.м.н., проф., заведующий
лабораторией энергетики биологических систем



Маевский Е.И.



Подпись: *Акатова В.С.*
Косенко Е.А.
Маевской Е.И.
УДОСТОВЕРЯЮ-ЗАВ.ОДОУ
О.В. СЕНОТОВА

