

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института физиологии им. И.П.Павлова РАН
член-корреспондент РАН, профессор Д.П.Дворецкий

22 января 2015 г

ОТЗЫВ

ведущего учреждения на диссертацию В.Н.Томилина
**«КАЛЬЦИЕВЫЕ КАНАЛЫ TRPV5 И TRPV6 В ЛИМФОЦИТАХ
ЧЕЛОВЕКА: ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ»**,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.04
— клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертационная работа Виктора Николаевича Томилина посвящена идентификации эндогенных Ca^{2+} -проводящих каналов в плазматической мембране лимфоцитов человека. Актуальность проведенного исследования не вызывает сомнений, так как кальциевая сигнализация и Ca^{2+} -проводящие каналы участвуют во всех жизненно важных событиях клетки, начиная от оплодотворения и формирования эмбриона, до клеточной дифференцировки, пролиферации и вплоть до клеточной смерти. Нарушения кальциевого обмена и сопряженных с ним функций лежат в основе многих клеточных патологий. В последние годы появляется все больше данных свидетельствующих об участии каналов суперсемейства TRP в механизмах проникновения кальция в клетку и кальциевой сигнализации подавляющего большинства тканей и органов. Члены суперсемейства TRP каналов участвуют в ионном гомеостазе и регуляции функций клеток, и изменения в их экспрессии влияют на рост, пролиферацию и трансформацию различных тканей.

В рамках диссертационной работы, впервые, были обнаружены и идентифицированы высокоселективные кальциевые каналы TRPV5 и TRPV6, относящиеся к суперсемейству каналов TRP в нормальных и злокачественно трансформированных лимфоцитах человека. С использованием различных вариантов метода локальной фиксации потенциала были охарактеризованы их стационарные и кинетические характеристики, исследовано действие блокирующих агентов. Особый интерес вызывает сравнительный анализ свойств и функциональной активности данных каналов в нормальных и лейкозных клетках. Авторами показано, что поверхностная плотность каналов существенно выше в плазматической мембране трансформированных клеток, чем в нормальных лимфоцитах. Эти данные хорошо согласуются с данными, полученными в работах других авторов, что свидетельствует о корреляции экспрессии каналов TRPV5/V6 со злокачественной трансформацией клеток в различных тканях.

Высокой оценки заслуживают исследования механизмов регуляции активности идентифицированных каналов. Приоритетными являются новые данные по влиянию, внеклеточного pH на кальциевые каналы TRPV5/V6 в лимфоцитах человека. Представлены убедительные экспериментальные доказательства в пользу непрямого действия pH на пору канала. С помощью электрофизиологических и иммунофлуоресцентных исследований экспериментально обосновывается потенциальное участие внутриклеточного транспорта в регуляции активности каналов TRPV5/V6 в лимфоцитах человека. Этот факт исключительно важен, поскольку каналы TRPV5/V6, как и многие члены TRP семейства конститутивно активны, и контролируемый экспорт этих каналов к плазматической мембране может иметь первостепенное значение для преобразования физиологических стимулов, получаемых клеткой, в повышение проницаемости плазматической мембраны для ионов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ. По научно-методическому уровню диссертационная работа В.Н. Томила отвечает всем требованиям, предъявляемым к исследованиям в области клеточной биологии, цитологии и гистологии. Диссертация В.Н. Томила построена по традиционному плану, включает введение, обзор литературы, разделы, в которых дано описание методов и результатов экспериментов, обсуждение, выводы и список литературы, содержащий 187 источников. Работа объемом 104 страницы включает 35 рисунков, написана хорошим языком, аккуратно и компактно. Подробное оглавление отражает логику работы и продуманность изложения материала. Все разделы диссертационной работы оставляют очень хорошее впечатление.

Обзор литературы включает современные данные о роли кальция и кальциевых каналов в жизнеобеспечении и активации лимфоцитов. Значительная часть обзора посвящена знакомству с членами большого суперсемейства каналов TRP, описываются способы их регуляции и роль в жизнедеятельности различных клеток. В целом, изложение материала проведено четко, логично, на достаточно высоком теоретическом уровне.

Не вызывает сомнений высокий методический уровень экспериментальных исследований. В работе используется современный метод локальной фиксации потенциала (патч-кламп), позволяющий регистрировать активность одиночных каналов. Следует отметить высокий профессиональный уровень диссертанта, который позволил ему на клетках крови применить методически наиболее сложную конфигурацию, метода патч-кламп, outside-out. Отметим особо, что результаты, полученные в электрофизиологических экспериментах, подтверждены данными иммунофлуоресцентных исследований. Все экспериментальные процедуры и обработка результатов выполнены автором лично.

В рамках диссертационной работы автору удалось ответить на многие вопросы, имеющие исключительное значение для решения фундаментальных проблем кальциевой сигнализации и регуляции кальциевых каналов в лимфоцитах крови человека. Учитывая выгодную доступность каналов для фармакологического

воздействия, выяснение молекулярных механизмов регуляции каналов TRP может открыть уникальные возможности для создания принципиально новых терапевтических подходов в лечении заболеваний, связанных с нарушением работы каналов в клетках крови.

Диссертация В.Н. Томилина является завершенной самостоятельной научно-квалификационной работой, имеющей принципиальную научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Использованные экспериментальные подходы современны и вполне адекватны поставленным задачам. Результаты достоверны, выводы обоснованы. Работа достаточно полно доложена и представлена на отечественных и зарубежных конференциях. Материалы диссертации полностью отражены в 8 публикациях в ведущих отечественных и зарубежных журналах. Необходимо подчеркнуть высокое научное качество проведенного автором исследования, новизну полученных данных и оригинальность сделанных обобщений. Результаты работы могут быть использованы при подготовке курсов лекций по физиологии, биофизике и клеточной биологии в СПбГУ и СПбГПУ, а также в исследовательской работе лабораторий Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Единственный вопрос, который хотелось бы задать автору работы следующий. Насколько Вы уверены, что внеклеточный pH совсем не влияет на свойства поры исследуемых каналов?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. По актуальности, теоретической и научно-практической значимости полученных результатов, а также объему выполненного исследования, представленная диссертация «Кальциевые каналы TRPV5 и TRPV6 в лимфоцитах человека: идентификация и механизмы регуляции» полностью соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Виктор Николаевич Томилин, несомненно, заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании научного отдела физиологии висцеральных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук 20 января 2015 г (протокол № 88).

Зав. лабораторией физиологии возбудимых мембран
Института физиологии им. И.П. Павлова РАН
профессор, доктор биологических наук

Б.В. Крылов

ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова,

Телефон: +7(812) 328-13-01

Факс: +7(812) 328-05-01

Эл. почта: tch48@infran.ru

Сайт: <http://www.infran.ru/>



Крылов Б.В.

Виза