

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Орлова Дмитрия Сергеевича

**«Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток
линии Р19 при гипоксии», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности**

3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы выполненной работы

Исследование молекулярных механизмов опухолевого роста является одним из важнейших направлений современной экспериментальной науки в силу высокого показателя смертности от онкологических заболеваний. Важным в патогенезе опухолевых заболеваний является нарушение реализации и регуляции клеточной гибели. При этом формирование окислительного стресса является неотъемлемым фактором, сопровождающим опухолевую трансформацию. Важным аспектом генерации активных форм кислорода является величина напряжения кислорода в клетке. Гипоксия представляет собой причину усиления продукции активных форм кислорода митохондриями. Одной из причин, позволяющей опухолевым клеткам «уклоняться» от запрограммированной клеточной гибели и проявлять устойчивость к терапевтическим воздействиям, является модулируемое гипоксией изменение редокс-статуса. Важным регулятором внутриклеточного редокс-статуса является глутатион и его система. Величина отношения восстановленной формы глутатиона к окисленной определяет редокс-статус клетки и регулирует управление сигнальных каскадов. Помимо этого, в условиях окислительного стресса происходит модификация макромолекул опухолевых клеток, приводящая к изменению их метаболизма. Значение редокс-статуса, глутатиона и его системы в этом аспекте определяется образованием смешанных дисульфидов с молекулами белков – глутатионилированием (обратимой ковалентной модификацией), а также карбонилированием протеинов (необратимой ковалентной модификацией).

Исходя из вышесказанного, идентификация механизмов управления апоптозом опухолевых клеток в условиях гипоксии позволит определить наиболее значимые молекулярные мишени данного патологического процесса. Поэтому актуальность работы Орлова Д.С., посвященная разработке подходов молекулярного редокс-управления клеточной гибелью опухолевых клеток как в условиях нормоксии, так и при гипоксии, не вызывает сомнений и представляет научный и практический интерес.

Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная ценность диссертационной работы Орлова Д.С. представлена новыми знаниями фундаментального характера о роли глутатиона и его системы в молекулярных механизмах окислительной модификации белков опухолевых клеток линии P19 при нормоксии и гипоксии. Было показано, что в условиях моделирования гипоксии в опухолевых клетках линии P19 проапоптотический эффект сопряжен с развитием окислительного стресса, снижением редокс-статуса системы глутатиона и накоплением глутатионилированных и карбонилированных белков. Впервые получены данные об участии обратимой (глутатионилирование) и необратимой (карбонилирование) ковалентной модификации протеинов в редокс-зависимой реализации и регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19, при нормоксии и гипоксии. А также идентифицированы возможности путей управления клеточной гибелью при воздействии редокс-модуляторов: протектора и блокатора SH-групп пептидов и белков, предшественника синтеза глутатиона, в условиях нормального и сниженного напряжения кислорода в среде культивирования опухолевых клеток линии P19.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Научная и практическая значимость диссертационного исследования Орлова Д.С. заключается в том, что установлена роль глутатиона и его системы, окислительной модификации протеинов в редокс-зависимой реализации и регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 в условиях нормального напряжения кислорода, а также при усилении окислительного стресса при гипоксии. Это позволяет углубить и расширить существующие фундаментальные представления о механизмах поддержания редокс-баланса опухолевых клеток, участия активных форм кислорода в управлении процессом клеточной гибели опухолевых клеток. Результаты исследования теоретически обосновывают молекулярное участие окислительной модификации белков в процессах клеточной гибели, что позволит разработать новые методические подходы для лечения и профилактики социально-значимых заболеваний, сопряженных с формированием гипоксии, в том числе и опухолевых заболеваний.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Перспективным направлением патологической физиологии и клеточной биологии является изучение роли обратимого типа модификации – S-тиоляции/детиоляции и необратимого – карбонилирования в регуляции

активных центров протеинов. Наряду с этим поиск молекул-кандидатов для мишень-направленного управления метаболической активностью опухолевых клеток с целью активации их гибели является насущной задачей современной экспериментальной науки. Поэтому результаты и выводы проведенной работы могут быть полезны научным коллективам (патолофизиологам, клеточным биологам, биохимикам), ведущим научные разработки в направлении селективной молекулярной регуляции клеточной гибели опухолевых клеток.

Степень обоснованности научных положений работы и выводов

Работа изложена на 148 страницах машинописного текста и иллюстрирована 5 рисунками и 19 таблицами. Диссертационная работа Орлова Д.С. написана в традиционном стиле и состоит введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, главы, в которой представлены результаты собственного исследования, их обсуждения, выводов и списка литературы (проеитировано 22 отечественных и 255 зарубежных работ авторов).

Цель представленной научной работы заключалась в установлении молекулярных механизмов участия окислительно-модифицированных белков и системы глутатиона в нарушении редокс-регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при нормоксии и гипоксии *in vitro*. Для достижения поставленной цели автором были сформулированы 4 задачи.

Высокая степень достоверности данных, полученных в ходе выполнения настоящего исследования, основана на достаточном экспериментальном материале, применении современных и высокотехнологичных молекулярно-биологических методов исследований. Полученные результаты статистически обработаны с помощью современных методов доказательной медицины.

На первом этапе диссертационного исследования соискателем оценивались реализация и регуляция апоптоза, уровень окислительного стресса, состояние компонентов системы глутатиона, окислительная модификация белков в опухолевых клетках линии P19, культивированных при нормальном напряжении кислорода и в условиях моделирования гипоксии *in vitro*.

На следующем этапе, для изучения молекулярных механизмов селективного редокс-управления апоптозом, опухолевые клетки линии P19 культивировали при нормоксии и гипоксии в присутствии редокс-модуляторов (блокатора SH-групп пептидов и протеинов – N-этилмалеимида, предшественника синтеза глутатиона – N-ацетилцистеина и протектора SH-групп пептидов и белков – 1,4-дитиозэритритола) и проводилась оценка вышеупомянутых параметров.

Выводы диссертационной работы отражают задачи и логично вытекают из результатов исследования. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Основные научные положения и выводы диссертационной работы используются в учебном процессе кафедр патофизиологии и биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По результатам диссертационного исследования опубликованы 5 научных статей в рецензируемых журналах из перечня ВАК. Результаты проведенного исследования неоднократно докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня.

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию нет.

В процессе работы над диссертацией Орлова Д.С. появилось несколько вопросов:

1. Какие компоненты системы глутатиона, на Ваш взгляд, оказывают выраженное влияние на редокс-зависимую регуляцию апоптоза опухолевых клеток линии P19 в условиях гипоксии?

2. Уточните, пожалуйста, молекулярные механизмы проапоптотического эффекта, полученного в условиях нормоксии в клетках линии P19 (тератокарцинома мыши С3Н/He) при воздействии N-этилмалеимида?

Заключение

Диссертация Орлова Дмитрия Сергеевича на соискание учёной степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи – поиска молекулярных механизмов участия окислительно-модифицированных белков и системы глутатиона в нарушении редокс-регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при нормоксии и гипоксии *in vitro*, имеющей существенное значение для медицинской науки в целом и способствует развитию научных исследований в области патологической физиологии. Работа соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 25.01.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор – Орлов Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой биологии медицинской

Ордена Трудового Красного Знамени

Медицинский институт им. С.И. Георгиевского

федерального государственного автономного

образовательного учреждения высшего

образования «Крымский федеральный

университет имени В.И. Вернадского»

(ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»)

20.05.2025

д-р мед. наук, доцент



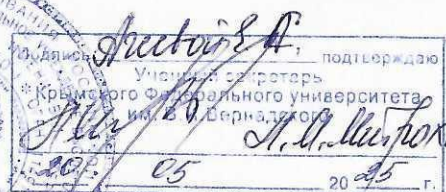
Елизавета Сергеевна Агеева

Подпись д-ра мед. наук, доцента Е.С. Агеевой

Заверяю:

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им.
С.И. Георгиевского федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный
университет имени В.И. Вернадского» (ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И.
Вернадского)

295033, Республика Крым, г. Симферополь, пр-т Академика Вернадского, д.4,
телефон +7 (3652) 60-84-98, e-mail: fuv@crimeaedu.ru, <https://cfuv.ru>



16.02 2025

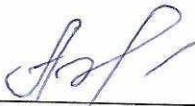
Сведения об официальном оппоненте
по защите диссертации Орлова Дмитрия Сергеевича
«Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции
апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии»
на соискание учёной степени кандидата медицинских наук
по специальности 3.3.3. «Патологическая физиология»

Фамилия, Имя, Отчество	Агеева Елизавета Сергеевна
Год рождения; гражданство	1976; РФ
Учёная степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	д-р мед наук 14.03.03 – патологическая физиология 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
Учёное звание	доцент
Основное место работы	
Почтовый индекс, адрес, телефон, электронная почта, официальный сайт	295033, Республика Крым, г. Симферополь, пр-т Академика Вернадского, д.4, Телефон +7 (3652) 60-84-98, e-mail: fuv@crimeaedu.ru, https://cfuv.ru
Полное наименование организации	Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»)
Наименование структурного подразделения	Кафедра биологии медицинской
Должность	Заведующий кафедрой
Список основных работ:	

1	Смирнова С.Н., Жукова А.А., Агеева Е.С., Лайкова Е.В., Оберемок В.В. / Оценка влияния антисмыслового тиреоидного 5.8srRNA-11-фрагмента на рост клеточной линии карциномы человека HEP-2 // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № 5. – С. 216-217.
2	Штыгашева О.В., Агеева Е.С., Гузарь Я.Р. / Метаболический профиль пациентов с раком толстой кишки // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 63-69.
3	Ageeva E.S., Golubinskaya E.P., Fomochkina I.I., Kubyshkin A.V., Zukow W., Shramko Yu.I., Ostapenko O.V., Zhukova A.A., Gurtovaya A.K. / Tumor biology: molecular genetics mechanisms of initiation, promotion and progression // Journal of Education, Health and Sport. – 2022. – V. 12, № 11. – P. 371-380.
4	Dolomatov S.I., Ageeva E.S., Zukow V.A. / Molecular biology of the cell // Journal of Education, Health and Sport. – 2022. – V. 12, № 8. – P. 730-926.
5	Samokhvalov I.M., Malyi K.D., Ageeva E.S., Degirmendzhi E.T., Gurtovaya A.K.,

	Ablaeva R.N., Trofimov P.S., Kubyshkin A.V. / Activation of human pluripotent stem cell-derived dendritic cells by cancer cell co-culture // Medical News of North Caucasus. – 2024. – V. 19, № 2. – P. 163-168.
6	Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Ивашкевич А.Ю. / Роль мутаций гена белка р53 в патогенезе хронического лимфоцитарного лейкоза // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2024. – Т. 14, № 3. – С. 35-42.

Официальный оппонент



Е.С. Агеева

Проректор по научной работе
и последипломной подготовке



О.С. Федорова

