

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации 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 (медицинские науки)

Диссертация Орлова Д.С. посвящена изучению роли гипоксии в редокс-регулировании молекулярных механизмов апоптотической гибели опухолевых клеток линии Р19. Несмотря на активно проводимые научные исследования в области патологической физиологии, экспериментальной онкологии, клеточной биологии, биохимии, многие аспекты опухолевого роста остаются недостаточно изученными. Особенный интерес представляют работы, посвященные селективным способам регуляции метаболизма опухолевых клеток. Работы такого уровня являются основой для новых патогенетических обоснованных методов терапии опухолевых заболеваний. В этом контексте, исследование вклада компонентов системы глутатиона и окислительной ковалентной модификации белков в реализацию и регуляцию механизма апоптотической гибели опухолевых клеток, несомненно, актуально. Таким образом, поставленная проблема требует всестороннего изучения, тем более что до сих пор не найдено ее решение и не наблюдается снижение роста онкологических заболеваний.

Для достижения поставленной цели автором было сформулировано 4 задачи, решение которых позволило понять механизм про- и антиапоптотического эффекта воздействия редокс-регуляторов на опухолевые клетки линии Р19 (тератокарциномы мыши СЗН/Не) в условиях нормоксии и гипоксии.

Автореферат дает полное представление о проделанной работе и позволяет оценить личный вклад автора. Автором проведено два этапа работы. В ходе первого этапа исследования было выполнено изучение особенностей реализации и регуляции апоптоза, оценка уровня сформированного окислительного стресса, особенностей реагирования компонентов системы глутатиона, окислительной модификации белков в опухолевых клетках, культивированных при нормальном напряжении кислорода и в условиях моделирования гипоксии *in vitro*. На втором этапе исследования был выполнен ингибиторный анализ в опухолевых клетках линии Р19 как в условиях нормоксии, так и при гипоксии, что позволило установить роль окислительной модификации белков и компонентов системы глутатиона в механизмах нарушений регуляции и реализации апоптоза. Достоверность полученных результатов обеспечена достаточным объемом экспериментального материала, современными молекулярно-биологическими методами исследования и корректной статистической обработкой данных. Полученные результаты в автореферате представлены в виде диаграмм, материал изложен в логической последовательности, полностью отражает дизайн и высокий методический уровень проведенного исследования.

Автором получены новые фундаментальные знания, отражающие изменение состояния системы глутатиона и ее участие в молекулярных механизмах окислительной модификации (глутатионилирования и карбонилирования) белков опухолевых клеток линии Р19 при нормоксии и гипоксии. Заключение автореферата содержит финальную схему, отражающую причинно-следственные связи нарушений регуляции апоптоза опухолевых клеток линии Р19 (тератокарцинома мышцы СЗН/Не) в условиях моделирования гипоксии.

Выводы логичны, соответствуют поставленным цели и задачам, закономерно вытекают из содержания работы. Результаты исследования в полной мере опубликованы в научных изданиях и представлены для обсуждения научной общественности.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет.

Таким образом, судя по автореферату, диссертация Орлова Дмитрия Сергеевича «Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решается задача поиска патогенетических механизмов редокс-регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток, что имеет существенное значение для патологической физиологии. Диссертация 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 ее автор, Орлов Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология (медицинские науки).

Старший научный сотрудник
лаборатории инвазивных медицинских технологий
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института химической
биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук (ИХБФМ СО РАН)
кандидат биологических наук, доцент
Тамкович Светлана Николаевна

Подпись заверяю



Почтовый адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8.
Телефон: 8(383) 363-51-44; e-mail: s.tamk@niboch.nsc.ru

Отзыв на автореферат диссертации
Орлова Дмитрия Сергеевича
«РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ
АПОПТОЗА КЛЕТОК ЛИНИИ Р19 ПРИ ГИПОКСИИ»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
3.3.3. «Патологическая физиология» (медицинские науки)

Актуальность выполненного исследования неоспорима, так как до сих пор отмечен неуклонный рост числа онкологических заболеваний человека. Поэтому научные исследования, направленные на выяснение молекулярных патогенетических механизмов нарушения регуляции апоптоза опухолевых клеток в целях обоснования персонафицированных подходов таргетной терапии злокачественных новообразований, имеет не только научно-медицинское, но и социально-экономическое значение, что и определяет высокую актуальность диссертационной работы Д.С. Орлова.

Текст автореферата диссертации Д.С. Орлова четко структурирован. Обоснована актуальность темы исследования, цель сформулирована корректно, задачи имеют корректную формулировку, кратко изложены методики исследования. Достоверность полученных результатов исследования и положений, выносимых на защиту, выводов обеспечена достаточным экспериментальным материалом, современными методами исследования и корректной статистической обработкой. Описание результатов соответствует сформулированным задачам. Результаты исследования соответствуют современному уровню развития науки. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы четко и последовательно сформулированы, отражают суть работы. Материалы диссертации представлены на научных форумах всероссийского и международного уровня и в центральной печати. По теме диссертации опубликовано 17 работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет.

Заключение. В целом, диссертационная работа Орлова Дмитрия Сергеевича «Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии» является законченной научно-квалификационной работой, вносящей вклад в фундаментальные исследования современной медицины. Получены приоритетные данные, позволяющие расширить имеющиеся представления об участии системы глутатиона и процессов окислительной модификации белков в молекулярных механизмах реализации и регуляции апоптотической гибели клеток линии Р19 при нормоксии и гипоксии. Результаты диссертационной работы могут быть использованы для теоретического обоснования молекулярных технологий управления танатогенной программой при опухолевом росте в условиях сниженного напряжения кислорода.

Диссертация Орлова Д.С. 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 ее автор заслуживает присуждения искомой им степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – «Патологическая физиология» (медицинские науки).

Д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник
Лаборатории клеточной иммунологии и
нанобиотехнологии «ИЭГМ УрО РАН»
26.05.2025



С.А. Заморина

Подпись д.б.н., доцента С.А. Замориной заверяю:
Директор «ИЭГМ УрО РАН», д.м.н., профессор
26.05.2025



С.В. Гейн

Данные об авторе отзыва: Заморина Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН») – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН), 614081, г. Пермь, ул. Голева 13, тел.: 8 (342)280-74-42, +7-9194737737; e-mail: secretary@iegm.ru, mantissa7@mail.ru; <http://www.iegm.ru/>

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **ОРЛОВА ДМИТРИЯ СЕРГЕЕВИЧА** «РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК ЛИНИИ P19 ПРИ ГИПОКСИИ», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 3.3.3 – патологическая физиология

В последнее время фундаментальные исследования становятся все более востребованы практикой, так как позволяют обосновать новые технологии и терапевтические подходы к лечению заболеваний посредством изменения направленности метаболизма клетки. Известно, что нарушение регуляции апоптоза опухолевых клеток тесно сопряжено с формированием окислительного стресса. Актуальность темы исследования, выбранная Дмитрием Сергеевичем Орловым, бесспорна и объяснима высокой заболеваемостью злокачественными новообразованиями, неблагоприятным течением и частыми рецидивами опухолевого процесса.

До сих пор отсутствуют четкие представления о редокс-механизмах, определяющих выбор между жизнью и смертью в опухолевых клетках. С одной стороны, существенный вклад в поддержание редокс-потенциала, определяющего функциональный статус опухолевых клеток, вносят антиоксидантные реакции с участием системы глутатиона, сопряженные с процессами окислительной модификации белков. С другой стороны, активные формы кислорода влияют на реализацию апоптотической гибели и могут выступать регуляторами этого процесса, проявляя как про-, так и антиапоптотические эффекты. Содержание активных форм кислорода напрямую зависит от напряжения кислорода и функционирования митохондрий опухолевых клеток. Работа Орлова Д.С. посвящена выяснению принципов реагирования системы глутатиона и механизмов участия ее компонентов, а также окислительно-модифицированных протеинов в регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при нормоксии и гипоксии; выявлению молекулярных мишеней редокс-регуляции программированной гибели этих клеток.

Формулировка четырех задач соответствует поставленной цели диссертационного исследования. Дизайн выполненной работы представляется весьма четким и продуманным. Обоснованно применение ингибиторного анализа в опухолевых клетках линии P19 (тератокарцинома мыши СЗН/Не) и моделирование гипоксии. Исследование проведено на достаточном экспериментальном материале. Диссертантом были применены молекулярно-биологические методы оценки изучаемых параметров, что соответствует современному уровню развития науки. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке. Все вышеуказанное позволило автору на высоком профессиональном уровне получить достоверные приоритетные результаты. В работе определена роль обратимой (глутатионилирование) и необратимой (карбонилирование) окислительной модификации белков в редокс-зависимой реализации и регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19, культивированных в условиях нормоксии и гипоксии. Автор установил особенности реализации апоптоза (рецепторный и митохондриальный путь) и описал участие системы глутатиона в опухолевых клетках линии P19 в зависимости от напряжения кислорода. Представление результатов в виде диаграмм дает полную картину выполненного исследования. Полученные данные имеют глубокое теоретическое обоснование и согласованы с современными данными литературы. Представленный в автореферате материал хорошо воспринимается при чтении. Финальная схема (рисунок 8) в полной мере

обеспечивает полную картину проведенного исследования и отображает комплексный подход, который был реализован для достижения поставленной цели. Выводы диссертации полностью вытекают из сути работы и соответствуют положениям, выносимым на защиту.

Полученные результаты в полной мере были опубликованы в достаточном объеме (17 работ, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации).

Оформление автореферата отвечает предъявляемым требованиям.

Исходя из анализа представленного автореферата, можно сделать вывод, что автор выполнил большой объем исследования, грамотно и логично обсудил результаты работы.

В целом работа Д.С. Орлова «Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии» является законченным научно-квалификационным трудом, который содержит решение научной задачи – определение молекулярных механизмов редокс-регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток. В диссертации содержатся важные фундаментальные знания для патологической физиологии.

На мой взгляд, диссертационное исследование бесспорно соответствует требованиям 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 ее автор, Орлов Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой им степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология (медицинские науки).

Заведующий кафедрой медицинской биохимии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Кемеровский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент, профессор РАН

07.05.2025

О.В. Груздева

Подпись Ольги Викторовны Груздевой заверяю:

Подпись заверяю:



Специалист по кадрам

Управление
кадров

Груздева О.В.

Адрес: 650056, г. Кемеровская область, Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, тел.: +7(3842) 73-27-60; e-mail: Biochem@kemsma.ru

07.05.2025

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Орлова Дмитрия Сергеевича
«Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии P19
при гипоксии»,

представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности: 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

Тема диссертационного исследования Орлова Д.С. соответствует одному из перспективных направлений экспериментальной медицины – изучение молекулярных механизмов и поиск мишеней регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток. Понимание ключевых регуляторных механизмов клеточной гибели малигнизированных клеток способствует формированию мишень-направленных подходов противоопухолевой терапии и улучшению качества проводимого лечения. Оригинальный подход к изучению взаимосвязей функционирования молекулярных систем с конформационными изменениями белков (обратимая и необратимая окислительная модификация протеинов), участия в этом процессе системы глутатиона как в условиях нормоксии, так и при моделировании гипоксии обосновал актуальность и научную новизну исследования.

Представленная формулировка четырех задач указывает на теоретическую и практическую направленность, а также четко соответствует поставленной цели исследования.

Объем клинико-экспериментального материала достаточен для получения репрезентативных результатов. Результаты исследования обеспечивают понимание механизмов редокс-регуляции процесса апоптотической гибели опухолевых клеток линии P19 (тератокарцинома мышцы СЗН/Не), культивированных при нормальном и сниженном напряжении кислорода. Благоприятное впечатление оставляет четко выстроенная методология исследования, реализованная с использованием комплекса самых современных высокоинформативных методов и ингибиторного анализа.

Представленный в автореферате материал хорошо воспринимается, так как имеет последовательное, логичное и аргументированное изложение. Полученные результаты подвергнуты детальному анализу и согласованы с современными данными литературы. Выполненное исследование носит фундаментальный характер, так как рассматривается участие компонентов системы глутатиона и окислительной модификации белков в регуляции и реализации процесса апоптотической гибели. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

Основные положения диссертации опубликованы в полном объеме – 17 работ, из них 5 статей – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации, из них 1 – цитируемая в Web of Science и 1 – цитируемая в Scopus.

Автореферат оформлен в традиционном стиле. Принципиальных замечаний к работе не имею.

Таким образом, диссертация **Орлова Дмитрия Сергеевича «Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии»** является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим решение научной задачи в области патологической физиологии, посвященной поиску молекулярных механизмов редокс-регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток. Диссертационная 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 ее автор, **Орлов Дмитрий Сергеевич**, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология (медицинские науки).

Ведущий научный сотрудник
лаборатории клеточных технологий
Научно-исследовательского института
клинической и экспериментальной
лимфологии – филиал Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения «Федеральный
исследовательский центр Институт
цитологии и генетики Сибирского
отделения Российской академии наук»
(НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН)
кандидат медицинских наук

Суровцева Мария Александровна

Подпись Суровцевой М.А. заверяю

Ученый секретарь НИИКЭЛ (филиал ИЦиГ СО РАН)

Кандидат биологических наук

22.07.2025



Соловьева Анастасия Олеговна

Почтовый адрес: НИИКЭЛ филиал ИЦиГ СО РАН, 630060, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д.2. Телефон: 8(383) 335-93-32.

Отзыв
на автореферат диссертации
Орлова Дмитрия Сергеевича
«РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ
РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК ЛИНИИ Р19 ПРИ ГИПОКСИИ»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

В настоящее время отмечен неуклонный рост числа онкологических заболеваний человека. В связи с этим выяснение молекулярных механизмов нарушения регуляции апоптоза опухолевых клеток и поиск молекул-кандидатов для селективного управления этого процесса является актуальным. Способность опухолевых клеток выживать базируется на изменении метаболизма клеток, которое сопряжено с формированием окислительного стресса. Одной из возможных причин усиления генерации активных форм кислорода выступает нарушение функционирования митохондриальной цепи переноса электронов при снижении напряжения кислорода. Поэтому экспериментальное исследование патогенетических механизмов развития опухолевого роста в условиях гипоксии актуально как для современной патологической физиологии, так и для медицины в целом. Целью исследований этого научного направления является обоснование персонифицированных подходов таргетной терапии злокачественных новообразований. Представленная работа, вне всякого сомнения, актуальна, так как посвящена возможности редокс-регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток линии Р19 с помощью системы глутатиона и процесса окислительной модификации белков при гипоксии.

Цель и задачи работы сформулированы корректно. Тщательность планирования и организации экспериментов, проведение исследований *in vitro* с применением корректного ингибиторного анализа и моделирования условий гипоксии, комплексный подход к оценке состояния системы глутатиона, окислительной модификации белков, реализации и регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток линии Р19 (тератокарциномы мышцы СЗН/Не), скрупулезный научный и статистический анализ полученных фактических данных, позволяют считать результаты диссертационной работы вполне убедительными и достоверными. Внушает доверие использование диссертантом в работе современных высокотехнологичных молекулярно-биологических методов и достаточное количество публикаций по результатам исследования в высокорейтинговых изданиях.

Приведенное в тексте автореферата Орлов Д.С. краткое изложение этапов проведенного исследования и вполне информативное описание содержания работы, позволяет оценить качество работы, соответствующее современному уровню развития науки. Описание результатов исследования соответствует сформулированным задачам. Результаты проведенного исследования являются новыми, существенно расширяют знания об общих закономерностях опухолевого роста как типового патологического процесса и позволяют сформулировать теоретическое обоснование регуляции апоптоза

Принципиальных замечаний по наиболее важным позициям работы: формулировке цели, задач исследования, выводам и положениям, выносимым на защиту, а также оформлению автореферата нет.

Диссертация Орлова Дмитрия Сергеевича «Редокс-зависимые механизмы нарушения регуляции апоптоза клеток линии Р19 при гипоксии» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение научной задачи как для медицины в целом, так и для патологической физиологии – идентификации молекулярных механизмов редокс-зависимой регуляции апоптоза опухолевых клеток. Диссертационная 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 ее автор, Орлов Дмитрий Сергеевич, заслуживает присуждения искомой им степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология (медицинские науки).

17 06. 2025

17.06.2025

»
профессор
СПЕЦИАЛИСТ
ДРОВ
В. И.
АН — доктор биологии

Вадим Эдуардович Цейликман – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры общей и клинической патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Челябинский государственный университет», 454001, Челябинская обл., г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, д.129, тел.: +7 (351) 799-71-01; e-mail: vadimed@yandex.ru