

## Отзыв

**официального оппонента Рощупкина Дмитрия Ивановича на  
диссертацию Ольги Ивановны Тюниной «Исследование механизмов  
действия монооксида углерода и УФ-света на структурно-  
функциональное состояние лимфоцитов и эритроцитов крови  
человека», представленную на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.01.02 - Биофизика**

Диссертационное исследование О.И. Тюниной посвящено выяснению физико-химических механизмов трансформации структуры и функций лимфоцитов и эритроцитов крови человека под действием монооксида углерода и УФ света. Эта работа актуальна в двух аспектах. Во-первых, оксид углерода и УФ излучение относятся к экологически важным агентам, они длительно воздействуют на организм человека, вызывают при высоких дозах нежелательные эффекты. Поэтому знание физико-химических механизмов взаимодействия этих факторов с клетками необходимо для разработки средства защиты организма от вредных воздействий внешней среды. Во-вторых, и ультрафиолетовое излучение и монооксид углерода применяют как инструмент в медико-биологических исследованиях, поскольку они избирательно взаимодействуют с определенными молекулярными компонентами клеток. В рассматриваемой работе в качестве основной цели было исследование влияния на изолированные лимфоциты и эритроциты монооксида углерода и УФ света по отдельности и в сочетанном варианте. Основное внимание обоснованно удалено изучению изменений в лимфоцитах, существенных для инициации и развития апоптоза. Можно заключить, что работа О.И. Тюниной несомненно актуальна, проблемно ориентирована. Главные составляющие научной новизны исследования: (1) монооксид углерода увеличивает в лимфоцитах содержание регуляторных белков Bcl-2 и ингибитора сурвивина и тем самым способен тормозить

развитие апоптоза; (2) ультрафиолетовое излучение в диапазоне 250- 365 нм в значительной дозе ( $755 \text{ Дж}/\text{м}^2$ ) стимулирует процесс апоптоза и это, вероятно, происходит за счет повышения экспрессии CD95 рецепторов.

Реценziруемая диссертационная работа оформлена традиционно. Состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием объектов и методов исследования, четырех глав результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего в себя 184 источника. Экспериментальные данные работы представлены 47 рисунками и 11 таблицами. Обзор литературы в целом отражает современные научные данные по теме диссертации: подробно изложены сведения о механизмах инициации и развития апоптоза клеток, описаны свойства изучаемых агентов, механизмы их взаимодействия биологическими объектами. Чувствуется, что обзор литературы получился бы более интересным, если за счет общих сведений привлечь больше данных оригинальных статей из журналов.

С методической стороны (глава 2) работа выполнена на хорошем современном уровне: методы современные, адекватны задачам исследования. Использованный методический комплекс включал биофизические методы (нефелеметрические и флуориметрические измерения в рамках проточной цитофлуориметрии, кинетическое исследование хемилюминесценции), бioхимические (электрофорез, иммуноферментный анализ) и цитоморфологические (сканирующая электронная микроскопия) методы. Для оценки изменения свойств лимфоцитов использовали комплекс показателей. Результаты статистически обработаны.

Основные результаты диссертационной работы, по-нашему мнению, сводятся к следующему. Важным достижением диссертанта следует считать следующую группу данных, полученных при изучении влияния инкубации суспензии клеток крови человека в атмосфере монооксида

углерода (в течение 1–1,5 ч): (1) у лимфоцитов происходит снижение уровня экспрессии поверхностных CD95 маркеров; (2) монооксид углерода снижает уровень хемилюминесценции лимфоцитов, усиленной люминолом, что указывает на ослабление образования оксидантов; (3) увеличивается содержания белков Bcl-2 и сурвивина. Все эти данные можно расценивать как аргумент в пользу того, что моноксид углерода в отношении лимфоцитов проявляет антиапоптическое свойство.

Результаты исследования особенностей действия УФ излучения также интересны в совокупности, ставят новые вопросы. По критерию изменения количества CD95 маркеров на плазматической мемbrane (данные проточной цитофлуориметрии) УФ излучение оказывает проапоптический эффект. Однако при этом фрагментация ДНК не происходит, через сутки повышается содержание белка Bcl-2. На основании этого диссертант резонно ставит вопрос о том, что в УФ-облученных клетках могут развиваться процессы компенсаторно-приспособительного характера.

Выводы диссертации, их 13, соответствуют целям и задачам исследования, обоснованы фактическим материалом работы. Вывод 10 следовало бы дополнить разъяснением, поскольку здесь говорится об инициации апоптоза и одновременно сообщается о повышении уровня антиапоптического белка. В тексте диссертации это разъяснение имеется.

Результаты исследования были представлены на региональных, всероссийских и международных съездах и научно-практических конференциях. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Автором представлен достаточно большой материал самостоятельных исследований на современном уровне. Основные положения работы Тюиной О.И. имеют несомненное теоретическое и практическое значение. Использованные в работе методы адекватны и современны. Результаты научной работы соответствуют цели и задачам исследования.

Полученные в работе результаты представляют интерес для современной фундаментальной науки и пополняют знания о ролиmonoоксида углерода и УФ-света в регуляции программированной клеточной гибели. Полученные результаты вносят заметный вклад в понимание механизмов молекулярных процессов при действии на клетки monoоксида углерода и УФ-света.

Работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК. К сожалению, в диссертации имеются неточности и ошибки. Хотя многие из них можно отнести к техническим погрешностям, некоторые требуют упоминания. В диссертации имеются ссылки на публикации, которые не указаны в списке литературы: R. Parshad, K.K. Sanford, 1977; С.В. Конев, И.Д. Волотовский, 1979 и др. Всего таких ссылок свыше 20.

В тексте диссертации сразу после таблицы 1 сделано заключение о том, что monoоксид углерода «в физиологических концентрациях не вызывает гибели лимфоцитов крови человека». Вместе с тем с помощью указанной таблицы доказывается, что жизнеспособность лимфоцитов в ходе инкубации в среде monoоксида углерода в определенной степени снижается.

На нескольких рисунках (например, рис. 6 и 7) оптическая плотность снабжена единицей измерения «опт. ед.». Но оптическая плотность является безразмерной величиной. В работе единицей измерения интенсивности хемилюминесценции (стр. 95-97) служит милливольт (мВ), а светосуммы хемилюминесценции – мВ·с. Хотя такого рода недоразумения можно встретить в публикациях по всему миру, тем не менее в биофизической работе это звучит не правильно. Следует различать показание хемилюминометра в милливольтах и интенсивность хемилюминесценции.

В тексте на стр. 127 обсуждаются сведения о зависимости действия УФ-света на клетки от кислорода со ссылкой на публикацию, в которой, однако, представлены данные о фотодинамических эффектах видимого света. Здесь же без ссылок на данные литературы утверждается, что в

митохондриях «при поглощении квантов света ферментными системами осуществляется восстановление молекул кислорода». Фактически это особое мнение автора диссертации, оно требует разъяснения.

Таким образом, диссертация Тюниной Ольги Ивановны «Исследование механизмов действия монооксида углерода и УФ-света на структурно-функциональное состояние лимфоцитов и эритроцитов крови человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, под руководством доктора биологических наук, профессора Валерия Григорьевича Артюхова и содержит решение проблемы установления молекулярных механизмов действия монооксида углерода и УФ-света при дисрегуляции апоптоза лимфоцитов крови человека, имеющей существенное значение для клеточной биологии и биофизики. Работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а автор диссертации – Тюнина Ольга Ивановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02. – биофизика.

03 апреля 2015 г.

Доктор биологических наук,  
профессор кафедры общей и  
медицинской биофизики

Рощупкин Дмитрий Иванович

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства Здравоохранения Российской Федерации”  
117 997, Москва, ул. Островитянова, д.1, тел. (495) 434-03- 29  
e-mail: rsmu@rsmu.ru

