ОТЗЫВ

официального оппонента Лидоховой Олеси Владимировны на диссертацию Тюниной Ольги Ивановны «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

Изучение структурно-функциональных изменений клеток крови при развитии апоптоза в условиях воздействии различных физико-химических факторов является весьма актуальным направлением, что связано со значительной ролью процесса клеточной гибели в развитии многих заболеваний. УФ-свет известен как потенциальный индуктор апоптоза в различных типах клеток, в том числе и лимфоцитов. Вместе с тем отсутствуют детальные представления о мишенях и посредниках реализации программируемой клеточной гибели при действии низких доз УФ-облучения Монооксид углерода проявляет как проапоптотическую, так и антиапоптотическую активность в отношении ряда нормальных клеток организма при разных молекулярных механизмах индукции апоптоза. Вопрос о действии монооксида углерода на клетки крови и его вклад в развитие программируемой клеточной гибели остается открытым. Представленная к защите диссертация Тюниной Ольги Ивановны вносит существенный вклад в понимание молекулярно-клеточных механизмов метаболизма клеток крови, расширяет современные представления о характере изменений программы реализации апоптоза лимфоцитов после воздействия УФ-света и монооксида углерода.

Научная новизна диссертации определяется изучением изменений уровня экспрессии мембранных рецепторов, структурного состояния ДНК,

активности митохондриальных ферментов, концентрации антиапоптозных белков в лимфоцитарных клетках человека при одиночном и сочетанном действии УФ-света и монооксида углерода. Проведено исследование воздействия монооксида углерода на эритроциты крови человека.

Диссертационная работа включает 174 страницы машинописного текста, 47 рисунков и 11 таблиц. Состоит из "Введения", 6 глав, "Заключения" и "Выводов". Список цитируемой литературы содержит 184 источника.

Представленный литературный обзор информативен. В нём изложены современные данные о структурно-функциональных свойствах лимфоцитов и эритроцитов человека. Дана подробная характеристика молекулярным механизмам и регуляции программируемой клеточной гибели, роли УФ-света и монооксида углерода в этом процессе.

Автором были использованы современные методы биофизических исследований: проточная цитофлуориметрия, сканирующая электронная микроскопия, спектрофотометрия, электрофорез, что позволило осуществить комплексное решение поставленных задач, и указывает на высокую методическую подготовку диссертанта.

Результаты собственных исследований представлены в главах 3-6 и наглядно отражены иллюстративным материалом.

В главе 3 представлены результаты экспериментов, направленных на изучение воздействия монооксида углерода на лимфоциты крови человека. Показано, что воздействие монооксида углерода (время экспозиции 60, 75, 90 мин) на лимфоцитарные клетки человека приводит к снижению уровня экспрессии CD95 рецепторов, параметров биохемилюминесценции, отсутствию фрагментации ДНК и повышению содержания антиапоптозных белков Bcl-2 (время экспозиции 60 и 90 мин.) и сурвивина (время экспозиции 90 мин.). Полученные данные свидетельствуют в пользу представлений об антиапоптотическом потенциале монооксида углерода.

Результаты исследований, представленные в главе 4, показывают, что воздействие монооксида углерода (время экспозиции 60, 75, 90 мин) на эритроциты человека приводит к изменению поверхностной архитектоники клеток и снижению величины коэффициента баланса энергетических реакций а, следовательно, и их функциональной активности.

В 5 главе диссертантом показано, что УФ-свет в дозах 151, 453 и 755 Дж/м^2 вызывает усиление процессов ПОЛ и увеличение количества CD95 маркеров на мембране лимфоцитов, приводит к фотоинактивации митохондриальных ферментов (сукцинатдегидрогеназы и цитохром *c*-оксидазы), снижению содержания антиапоптозных белков (Bcl-2 и сурвивина), «утяжелению» фрагментов геномной ДНК и оказывает проапоптатический эффект.

При анализе результатов, представленных в главе 6, диссертантом обнаружено, что сочетанное действие УФ-света и монооксида углерода вносит существенный вклад в программу реализации апоптоза лимфоцитов крови человека.

В «Заключении» автор предлагает обобщенные схемы, отражающие молекулярно-клеточные механизмы действия монооксида углерода и УФ-света на лимфоцитарные и эритроцитарные клетки человека.

Полученные автором данные способствуют расширению и углублению фундаментальных представлений о регуляции и механизмах программируемой клеточной гибели при действии монооксида углерода и УФ-света.

Опубликованные по теме диссертации работы в полной мере отражают изложенный в работе материал.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

В качестве замечаний по рецензируемой работе можно отметить следующее:

1. В главе 3 проанализированы параметры биохемилюминесценции лимфоцитов крови человека после воздействия монооксида углерода. Не ясно, почему аналогичные эксперименты не были проведены с эритроцитами. Это могло бы расширить представления о механизмах действия СО на эритроциты, приводящее к увеличению количества дегенеративных форм.

2. Поскольку автор указывает на реализацию эффектов воздействия монооксида углерода на клетки через гуанилатциклазу, то было бы целесообразно провести определение активности данного фермента.

3. При обсуждении результатов экспериментов по воздействию УФ-света на лимфоцитарные клетки человека хотелось бы более глубокого их обоснования с использованием данных, полученных ранее на кафедре биофизики Воронежского государственного университета.

4. В диссертационной работе не указывается количество обследованных лиц, однако эти сведения вызывают определенный интерес в связи с выявлением различных групп доноров при исследовании некоторых показателей.

5. Для выяснения вклада монооксида углерода в дизрегуляцию программируемой клеточной гибели лимфоцитов крови человека был использован рекомбинантный ИЛ-2. Чем был мотивирован выбор данного цитокина?

Однако сделанные замечания не влияют на общий высокий уровень проведенных исследований. Представленная к защите диссертационная работа Тюниной Ольги Ивановны «Исследование механизмов действия монооксида углерода и УФ-света на структурно-функциональное состояние лимфоцитов и эритроцитов крови человека» 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 ее автор заслуживает

присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02. – Биофизика.

Ассистент кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая 10; тел. (473)259-38-05; e-mail: mail@vsmaburdenko.ru,
кандидат биологических наук О.В. Лидохова

2. 04. 2015 г

Подпись О.В. Лидоховой заверяю.
Начальник управления кадров
ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко
Минздрава России С.И. Скорынин