

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.318.08,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
В.И. ВЕРНАДСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17 июня 2022 г. № 7

О присуждении Родькину Станиславу Владимировичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль монооксида азота и белков клеточной смерти в нервной ткани при повреждении нерва и фотоокислительном воздействии у животных» по специальности 1.5.4 – Биохимия принята к защите 12 апреля 2022 г. (протокол заседания № 5) диссертационным советом 24.2.318.08, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 295007, Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, д. 4, Приказ Министерства науки и высшего образования №655/нк от 30 октября 2020 г.

Соискатель Родькин Станислав Владимирович, 10 февраля 1991 года рождения, в 2015 году окончил Академию биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета по специальности «Биология».

Освоил программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре (год окончания 2019) в Федеральном государственной автономном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южный Федеральный университет» по специальности 03.01.04 Биохимия, работает в должности ассистента кафедры «Биология и общая патология»

факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственной технической университет».

Диссертация выполнена на кафедре «Биология и общая патология» факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственной технической университет».

Научный руководитель – доктор биологических наук, заведующая кафедрой «Биоинженерия» факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» Донского государственного технического университета Кириченко Евгения Юрьевна.

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор, декан факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» Донского государственного технического университета Ермаков Алексей Михайлович

Официальные оппоненты:

Ванин Анатолий Фёдорович, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук», главный научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией физической химии биополимеров.

Отзыв положительный.

Замечания, вопросы.

«Диссертационная работа Родькина С.В. хорошо, добротна выполнена, но стоит заострить внимание на использовании ряда терминов, которые не совсем подходят в выбранном научном контексте. Также стоит обратить внимание на более лаконичный стиль научного изложения.

К диссертационному исследованию Родькина С.В. у меня имеются следующие замечания.

Замечание общего, фундаментального порядка.

Диссертация С.В. Родькина — пример «чисто биологического»

описания исследуемого биологического явления, результатом которого является создание списка большого количества взаимодействующих друг с другом разнообразных белков. Что касается физико-химических механизмов, лежащих в основе избирательного взаимодействия между этими белками — этот вопрос в диссертации не ставится. То же самое касается физико-химических механизмов действия на живые организмы оксида азота. Диссертант говорит лишь о нейтральных молекулах NO, мишенью действия которых являются только гем-содержащие белки, например, гуанилатциклаза. Между тем, не меньшее влияние на живые организмы оказывают производные нейтральных молекул NO – катионы нитрозония (NO⁺). Мишень их действия - тиоловые группы белков. Результат действия этих катионов на тиоловые группы белков — их S- нитрозирование — трансформация, вызывающая резкое изменение реактивности тиоловых групп белков.

Это замечание никоим образом не умаляет достоинства диссертации С.В. Родькина как широкого и вместе с тем глубокого научного исследования. Мне только хотелось бы, чтобы в будущих своих исследованиях биологии оксида азота диссертант начал бы обращать внимание на физико-химию действия оксида азота на живые организмы.

К минорным замечаниям к диссертации отношу следующее:

1. Почему в исследовании использовались две методики выделения рецепторов растяжения рака?

2. Почему в исследовании в качестве донора оксида азота использовался именно нитропруссид натрия? Кстати, это соединение в живых организмах может выступать донором не только нейтральных молекул NO, но и катионов нитрозония!

3. Насколько специфичным для определения оксида азота является 4,5-диаминофлуоресцеин диацетат? Нет ли здесь «подводных камней»?

Автору диссертационной работы рекомендуется в будущих исследованиях провести иммунофлуоресцентный и вестерн-блот анализ

экспрессии нейрональной и индуцибельной NO-синтаз в дорзальных ганглиях крысы при перерезке седалищного нерва, а также иммунофлуоресцентное исследование данных изоформ NOS в рецепторе растяжения рака при аксотомии и фотодинамическом воздействии.

Все вопросы и замечания несколько не умоляют достоинства диссертационной работы Родькина С.В. По своему теоретическому и экспериментальному уровню эта работа существенно превосходит многие кандидатские диссертации, так что можно только посоветовать её автору издать материал диссертации в виде отдельной монографии».

Шихлярова Алла Ивановна, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей.

Отзыв положительный.

Замечания, вопросы.

«В то же время есть некоторые замечания по данной работе. Так, в обзоре литературы желательно больше осветить вопросы на тему изучения NO и P53, в том числе при перерезке седалищного нерва, методов профилактики нейрогенной боли и коморбидных состояний в отечественных экспериментальных исследованиях, что актуально для лечебной практики у животных. Кроме того, конец обзора логично было бы завершить формулированием представления о целесообразности авторских исследований. В разделе методического характера отсутствуют сведения о количестве экспериментальных животных, ошибочно указан вес 2-2,5-месячных крыс, вдове превышающий нормативные показатели. Безусловно перегружена информацией 3 глава, которая даже по смыслу подразделяется на две самостоятельные части: ФДТ и хирургическая травма – аксотомия. Её 15 подразделов утяжеляют структуру главы и целостное восприятие первичного материала. К пожеланиям относится более доказательная формулировка выводов, в которых, к сожалению, отсутствует

подкрепляющая статистическая база с уровнем достоверности различий. Практические рекомендации могли быть составлены в более конкретном указании используемых активаторов и ингибиторов в отношении нейропротекторных препаратов.

Также хотелось уточнить:

1. Насколько специфичный метод TUNEL для определения апоптотической гибели клеток? Номенклатурный комитет по гибели клеток рекомендует использовать как минимум два независимых показателя для определения пути гибели клеток.

2. Почему в исследовании по ФД-воздействию используется именно фотосенсибилизатор Фотосенс?

Приведенные замечания не снижают оценки качества диссертационной работы и не являются принципиальными. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертационной работы».

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук» в своем положительном заключении, подписанном Бондарем Игорем Вячеславовичем, доктором биологических наук, профессором РАН, заведующим лабораторией физиологии сенсорных систем, указала, что по своей актуальности, высокому методическому уровню, новизне полученных результатов, а также научно-практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям пунктов 9, 10, 11, 13, 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного правительством РФ (Постановление правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, с изменениями, внесенными постановлениями правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, 01.10.2018 г. №1168, от 20.03.2021 г. №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Родькин Станислав Владимирович – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Заключение ведущей организации имеет следующие замечания, не снижающие научной значимости проделанных исследований:

«Критически значимых вопросов и замечаний по работе не имеется. Тем не менее хотелось в качестве дискуссии обсудить следующее: в литературном обзоре детально описаны особенности биохимических каскадов в разных локациях в мозгу, и здесь встает вопрос как локальные особенности поддержания уровня NO связаны с функционалом разных отделов мозга?»

Соискатель имеет 25 опубликованных работ по теме диссертации общим объемом 110 п.л. с долей авторского участия 62 п.л., из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 работ. Среди них 5 статей, опубликованных в журналах из Перечня ведущих российских рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК, из которых по специальности 1.5.4 – Биохимия (биологические науки) – 5; 5 статей в журналах, индексируемых в базах данных WoS и Scopus. В представленных публикациях отображены основные результаты диссертационной работы, посвященные роли NO и проапоптотических белков p53, E2F1, APP в нейронах и глиальных клетках при перерезке седалищного нерва и фотоокислительном воздействии у беспозвоночных и позвоночных животных. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Наиболее значительные работы следующие:

1. Ca²⁺- and NF-κB-dependent generation of NO in the photosensitized neurons and satellite glial cells // J Photochem Photobiol B. – 2019. – V. 199. –P. 1111603 (WoS, Scopus, ВАК).

2. HDAC1 Expression, Histone Deacetylation, and Protective Role of Sodium Valproate in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection // Mol Neurobiol. – 2021. – V. 58. – № 1. – P. 217 – 228 (WoS, Scopus, ВАК).

3. The Localization of p53 in the Crayfish Mechanoreceptor Neurons and Its

Role in Axotomy-Induced Death of Satellite Glial Cells Remote from the Axon Transection Site // J Mol Neurosci. – 2020. – V. 70. – № 4. – P. 532 – 541 (WoS, Scopus, BAK).

4. The Expression of E2F1, p53, and Caspase 3 in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection // J Mol Neurosci. – 2021. – V. 74. – № 4. – P. 826 – 835 (WoS, Scopus, BAK).

5. Роль p53-зависимых сигнальных путей в выживании и гибели нейронов и глиальных клеток при повреждении периферической нервной системы // Биологические мембраны. – 2021. – Т. 6. – № 6. – С. 402 – 417. Переводная версия. Rodkin, S. V., et al. "The Role of p53-Dependent Signaling Pathways in Survival and Death of Neurons and Glial Cells after Peripheral Nerve Injury." Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology 15.4 (2021): 334-347 (WoS, Scopus, BAK).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Клабуков Ильи Дмитриевич, кандидат биологических наук, заведующий отделом регенеративной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России. Адрес: 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский проезд, д. 3. Контактная информация: e-mail: ilya.klabukov@gmail.ru, тел: 8(926)970-31-48.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

2. Дилекова Ольга Владимировна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Адрес: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический,12. Контактная информация: e-mail: dilekova2009@yandex.ru, тел: +7(8652)286738.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

3. Близнецова Галина Николаевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий и биоаналитики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования

живых систем ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Адрес: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б. Контактная информация: e-mail: vnivipat@mail.ru, тел: 8(473)253-92-81.

Пасько Надежда Валериевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Адрес: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б. Контактная информация: e-mail: vnivipat@mail.ru, тел: 8(473)253-92-81.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

4. Лавриченко Светлана Петровна, кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой адаптивной физической культуры ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма». Адрес: 350015, г. Краснодар, ул. им. Буденного, 161. Контактная информация: e-mail: slavrichenko@mail.ru, тел: +7(861)255-35-17.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

5. Павельев Игорь Геннадьевич, кандидат педагогических наук, и.о. заведующего кафедрой биохимии, биомеханики и естественнонаучных дисциплин ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма». Адрес: 350015, г. Краснодар, ул. им. Буденного, 161.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

6. Савенков Константин Станиславович, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет». Адрес: 196601, Санкт-Петербург – Пушкин, Петербургское шоссе, д.2. Контактная информация: e-mail: vetkos@inbox.ru, тел: +7(812)476-44-44 (доб.305).

Савенкова Мария Николаевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет». Адрес: 196601, Санкт-Петербург – Пушкин, Петербургское шоссе, д.2.

Контактная информация: e-mail: marley@mail.ru.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

7. Повилайтите Патриция Едмундовна, кандидат биологических наук, заведующая отделением Высокотехнологических методов диагностики ГБУ Ростовской области «Патологоанатомическое бюро». Адрес: 344015, г. Ростов-на-Дону, ул. Благодатная, 170А.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

8. Добаева Наталья Михайловна, кандидат химических наук, доцент, заведующая кафедрой общей и клинической биохимии №2 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Адрес: 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. Контактная информация: e-mail: bnm8@mail.ru, тел: +79185010562.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

9. Олег Владимирович Островский, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой теоретической биохимии с курсом клинической биохимии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». Адрес: 400131, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1. моб.+79272518317 mail: ol.ostr@gmail.com

Александр Николаевич Шинкаренко, доктор ветеринарных наук, председатель Национальной коллегии судебных экспертов ветеринарной медицины и биоэкологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». Адрес: 400131, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1. моб.+79996252485 mail: ash28@yandex.ru

Отзыв положительный. Замечаний нет.

10. Лысенко Лариса Валерьевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории «Биология синапсов» НИТЦ нейротехнологий ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». Адрес: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194.

Дзряян Валентина Александровна, научный сотрудник лаборатории «Молекулярная нейробиология» ФГАОУ ВО «Южный федеральный

университет». Адрес: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1.

Отзыв положительный.

Замечание: «В качестве замечания хотелось бы обсудить дополнительные пути регуляции белка APP. В последнее время активно рассматривается эпигенетическая регуляция выживания и гибели клеток при нейротравме, в частности, с участием гистондеацетилаз». В связи с этим возникает вопрос: каким автор видит механизмы влияния гистондеацетилаз на экспрессию и локализацию белка APP? Отмеченные выше замечания носят рекомендательный характер и не снижают научно-практическую значимость выполненного Родькиным С.В. диссертационного исследования».

11. Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского». Адрес: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

12. Ахтемов Тахир Мунавирович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии, физики и математики ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана». Адрес: 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35.

Отзыв положительный. Замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем их профессиональной компетентности и научными разработками, связанными с изучением биохимии сигнальных молекул животных, использованием биохимических и молекулярно-генетических методов для решения эволюционно-биологических задач, наличием значительного числа научных трудов, в том числе соотносимых с проблематикой диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных

соискателем исследований:

Доказано, что повышение внеклеточной концентрации Ca^{2+} , использование Ca^{2+} -ионофора иономицина, блокирование Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума с помощью tBuBHQ, активация фактора транскрипции NF- κ B с помощью простратина увеличивают генерацию оксида азота (NO) в нейронах и глиальных клетках речного рака *Astacus leptodactylus* при фотодинамическом (ФД) воздействии. При этом блокирование Ca^{2+} -каналов плазматической мембраны ионами хлорида кадмия и блокирование Ca^{2+} -каналов L-типа нифедипином, а также ингибирование фактора транскрипции NF- κ B с помощью партенолида и ингибирование iNOS гемисульфат S-метилизотиомочевинной (SMT) отдельно и в комбинированном эксперименте с простратином приводит к уменьшению генерации NO при ФД-воздействии. Родькин С.В. предполагает, что в основе фотоиндуцированной генерации NO в нейронах и глиальных клетках при модуляции уровня внутриклеточного и внеклеточного кальция лежат механизмы, связанные с активацией nNOS по Ca^{2+} -CaM-зависимому пути. Кроме этого диссертант доказал, что NF- κ B детерминирует увеличение продукции NO через активацию iNOS при ФД-воздействии.

Стоит отметить, что уменьшение внеклеточной концентрации вдвое ниже нормы не приводило к достоверному снижению генерации NO при облучении, что, как предполагает Родькин С.В., связано с активацией механизмов поддержания внутриклеточного Ca^{2+} -гомеостаза за счёт выхода Ca^{2+} из Ca^{2+} -депонирующих внутриклеточных компартментов, таких как митохондрии, аппарат Гольджи. Позднее увеличение уровня NO при блокировании Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума, по мнению Родькина С.В., может быть объяснено реверсом вышеизложенного механизма поддержания Ca^{2+} внутри клетки, а также активным удалением наружу Ca^{2+} через Ca^{2+} -АТФазы и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антипорта плазмолеммы. Дальнейшее облучение приводит к фотоиндуцированной дегградации мембранных структур и невозможности поддерживать в условиях

блокирования Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулула кальциевого гомеостаза. Как следствие, увеличивающийся уровень Ca^{2+} активирует nNOS.

В диссертационной работе Родькин С.В. доказал, что ингибирование растворимой гуанилатциклазы (sGC) с помощью ODQ приводило к уменьшению фотоиндуцированной генерации NO в нейронах и глиальных клетках речного рака. Использование активатора sGC не вызывало уменьшения генерации NO. Родькин С.В. предполагает, что это может быть связано с изначально высоким уровнем sGC и инактивацией Ca^{2+} -каналов L-типа через сигнальный путь cGMP / PKG.

В диссертационной работе Родькина С.В. было доказано, что перерезка седалищного нерва у крыс вызывает ядерно-цитоплазматическое перераспределение p53 в нейронах дорзальных ганглиев (DRG). Однако использование NO-донора нитропрусида натрия (SNP) приводит к ядерному депонированию p53 в поврежденных нейронах в ранние сроки после травмы. Обратный эффект наблюдается при ингибировании iNOS с помощью SMT. Автор работы предполагает, что NO-зависимое депонирование p53 в нуклеоплазме может быть связано с уменьшением уровня Mdm2, ключевого фермента протеосомной деградации p53, а также с инактивацией сигнала ядерного экспорта p53: данные процессы может модулировать NO. Кроме этого Родькин С.В. показал, что SNP вызывает увеличение уровня p53 в ядрах глиальных клеток аксотомированного DRG. Также Родькиным С.В. было доказано, что аксотомия вызывает гибель нейронов и глиальных клеток в DRG. Эти процессы значительно усиливались при введении крысам SNP. При этом SMT оказывало цитопротекторное действие. Полученные данные свидетельствуют, что в гибели клеток нервной ткани большую роль играет NO, а именно его индуцибельная гиперпродукция.

Детально в работе Родькиным С.В. была рассмотрена локализация и экспрессия p53 на модели аксотомии беспозвоночных животных, речного рака *Astacus leptodactylus*. Было доказано, что аксотомия вызывает увеличение уровня p53 в цитоплазме и в ядре нейронов, а также в

нуклеоплазме сателлитных глиальных клеток. При этом в интактных нейронах, сохраняющих связь с соответствующим ганглием брюшной нервной цепочки, p53 главным образом локализовался в ядрышке и в узком цитоплазматическом кольце вокруг ядра. Флуоресценция p53 в ядрышке пропадала при аксотомии. Однако интенсивность флуоресценции p53 в перинуклеарном кольце возрастала. Родькин С.В. доказал, что наблюдаемый эффект цитоплазматического кольца p53 может быть частично обусловлен взаимодействием p53 с митохондриями, плотность которых максимальна в этой области у механорецепторных нейронов рака. Для этого Родькин С.В. использовал ингибитор связывания p53 с митохондриями пифитрин-μ. В результате область цитоплазматического кольца p53 уменьшалась при аксотомии.

Также диссертант Родькин С.В. доказал, что E2F1 и APP участвуют в процессах, развивающихся в нейронах, при аксотомии у позвоночных и беспозвоночных животных. Было показано, что перерезка седалищного нерва вызывает ядерное увеличение уровня E2F1 и в меньшей степени его цитоплазматическое повышение в аксотомированных нейронах DRG. Обратная картина наблюдается в механорецепторных нейронах рака, где уровень E2F1 максимально увеличивается в цитоплазме и меньше в ядерной области. Родькин С.В. предполагает, что ядерная локация E2F1 свидетельствует об активации этим белком транскрипционно-зависимого апоптоза в нейронах позвоночных животных при аксотомии. Цитоплазматическое распределение E2F1 в нейронах беспозвоночных животных при аксональном стрессе свидетельствует о транскрипционно-независимом пути апоптоза при аксотомии, реализующимся через связывание E2F1 с митохондриями.

В ходе своего диссертационного исследования Родькин С.В. наглядно продемонстрировал, что перерезка седалищного нерва вызывает накопление С-APP и N-APP в поврежденных нейронах DRG. При этом С-APP локализуется главным образом в ядре через сутки после травмы. N-APP

имеет только цитоплазматическую локализацию. В механорецепторных нейронах речного рака аксотомия вызывала накопление С-APP максимально в цитоплазме, дендритах, аксоне и меньше в ядерной области. Аналогичная картина наблюдалась и с N-APP, исключением было только ядро, где флуоресценция N-APP не выявлялась. Родькин С.В. предполагает, что ядерная локализация С-APP обусловлена накоплением продукта протеолиза С-конца APP пептидом AICD, обладающим ярко выраженной транскрипционно-проапоптотической активностью. Стоит отметить, что Родькин С.В. в своей работе рассмотрел эпигенетические механизмы регулирования экспрессии APP. Диссертант доказал, что гистондеацетилазы модулируют уровень данного белка в условиях аксотомии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Полученные результаты Родькиным С.В. о роли Ca^{2+} -, sGC- и NF- κ B-сигнальных путей в фотоиндуцированной генерации NO, а также о NO-зависимом модулировании уровня p53 и клеточной гибели, локализации и экспрессии проапоптотических белков p53, E2F1 и APP в нейронах и глиальных клетках при аксотомии вносят существенный вклад в понимание механизмов выживания и гибели клеток нервной ткани в условиях фотоокислительного и аксонального стресса. Так в диссертационном исследовании была подробно рассмотрена роль внеклеточного Ca^{2+} , Ca^{2+} -каналов и Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума в генерации NO в нейронах и глиальных клетках. Родькиным С.В. был продемонстрирован ключевой механизм NF- κ B-зависимой фотоиндуцированной генерации NO, реализующийся через активацию iNOS. Также в ходе проведенного исследования Родькиным С.В. были выявлены механизмы обратной регуляции уровня NO растворимой гуанилатциклазой в условиях фотоокислительного стресса.

На модели аксотомии позвоночных животных Родькин С.В. показал механизмы NO-зависимого ядерного депонирования p53 в нейронах и глиальных клетках и ключевую роль NO в клеточной гибели. Причем в обоих

процессах ведущим молекулярным игроком выступает индуцибельная изоформа NO-синтазы. Стоит отметить, что Родькин С.В. продемонстрировал ядерно-цитоплазматическое перераспределение p53 в поврежденных нейронах.

Особое внимание заслуживают результаты, посвященные критической роли ядрышка в регулировании уровня p53 в нейронах беспозвоночных животных при аксотомии. Также большой интерес представляет накопление p53 в узком кольце вокруг кариоплазмы в условиях аксонального стресса.

Родькиным С.В. была также изучена экспрессия и локализация проапоптотических белков E2F1 и APP. Были получены результаты о повышении уровня E2F1 и APP в нейронах позвоночных и беспозвоночных животных. Причем Родькин С.В. показал, что проапоптотическая активность APP может реализоваться через продукт протеолиза его С-конца – AICD, а также уровень APP могут регулировать гистондеацетилазы.

Несомненно, диссертационная работа Родькина С.В. имеет фундаментальное значение в понимании сигнальных механизмов выживания и гибели нейронов и глиальных клеток в условиях фотодинамического воздействия и аксонального стресса.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Использованные в диссертационной работе Родькина С.В. ингибиторы и активаторы различных сигнальных путей могут быть использованы в разработке эффективных нейропротекторных препаратов, способных защитить нейроны и глиальные клетки при фотодинамическом воздействии и аксотомии.

Полученные результаты внедрены в научно-исследовательскую деятельность неврологического центра ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», а также используются в педагогической и научно-исследовательской работе факультета

«Ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

Достоверность полученных Родькиным С.В. результатов обусловлена грамотным подбором исследовательских методов, строгим проведением их в соответствии с международными протоколами, хорошей технической базой, оснащенной лицензированным оборудованием, а также репрезентативной выборкой животных и детальным анализом полученных данных с помощью сертифицированного программного обеспечения. Стоит отметить, что исследования были проведены в рамках следующих грантов: Проект № БЧ0110 - 11/2017 - 22 «Сигнальные механизмы регуляции выживания и смерти сенсорных нейронов и глиальных клеток беспозвоночных и млекопитающих животных при повреждении нервов», Гос. Задание №0852/2020 - 0028 "Биохимические и молекулярно – генетические исследования механизмов патологических процессов, ассоциированных с социально – значимыми заболеваниями".

Личный вклад соискателя

Родькин С.В. непосредственно участвовал в проведении экспериментальной и аналитической работы и подготовке публикаций по теме диссертационного исследования. Полученные результаты Родькиным С.В. были апробированы на ряде конференций и семинаров. Автором диссертационного исследования опубликовано 25 печатных работ в отечественных и зарубежных журналах. Причем 5 статей – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационного исследования, 7 публикаций входят в базы цитирования Web of Science и Scopus. Кроме этого результаты диссертационного исследования внедрены в научно-исследовательскую деятельность ряда учреждений.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие замечания:

Соискатель Родькин Станислав Владимирович ответил на задаваемые в

ходе заседания вопросы.

На заседании 17 июня 2022 года диссертационный совет принял решение: присудить Родькину Станиславу Владимировичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16-ти человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.4. – Биохимия, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, (дополнительно введены на разовую защиту 0 человек), проголосовали: «за» – 16, «против» – 0, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета 24.2.318.08,

доктор биологических наук, профессор



Е.Н. Чужан

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.2.318.08,

кандидат биологических наук, доцент

Д.Р. Хусаинов

17 июня 2022 г