ОТЗЫВ

официального оппонента Рукша Татьяны Геннадьевны, доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедрой патологической физиологии имени профессора В.В.Иванова Факультета педиатрии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Юрченко Ксении Андреевны: «Ингибиторный эффект тиофосфатного антисмыслового олигонуклеотида против матричной РНК гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы меланомы мышей», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология в диссертационный совет 24.2.318.01 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

Актуальность исследования

Диссертационная работа Юрченко К.А. выполнена в области экспериментальной патофизиологии и посвящена изучению влияния экспериментальной олигонуклеотидной терапевтической конструкции, вызывающей нокдаун гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД) меланомы in vivo.

Меланома кожи является одной из наиболее агрессивных форм злокачественных новообразований, что обусловлено ее высокой метастатической активностью и быстрым прогрессированием. Несмотря на значительные достижения в терапии данного заболевания, осуществленный благодаря внедрению иммунотерапии и таргетных препаратов, клиническая практика сталкивается с серьезными ограничениями. Среди них – высокая

системная токсичность существующих схем лечения, развитие приобретенной резистентности, а также недостаточная избирательность воздействия на опухолевые клетки, что особенно критично при длительной терапии.

В качестве инструмента селективного подавления экспрессии гена Г6ФД в диссертационной работе использованы антисмысловые олигонуклеотиды. Данный подход, относящийся к методам молекулярной терапии, позволяет целенаправленно блокировать трансляцию целевой мРНК, что делает возможным высокоспецифичное воздействие на молекулярные мишени, вовлеченные в ключевые механизмы жизнедеятельности опухолевых клеток.

Таким образом, выбранная тема диссертационного исследования является несомненно актуальной, соответствует современному уровню развития онкологии, патофизиологии и молекулярной биологии, и направлена на решение важной фундаментальной и прикладной задачи — создание экспериментальных оснований для разработки селективной антисмысловой терапии меланомы, нацеленной на метаболическую уязвимость опухолевых клеток.

Степень достоверности и новизны результатов исследования, а также обоснование научных положений, выводов и рекомендаций.

Целью диссертационного исследования Юрченко К.А. было исследование механизмов действия и эффективности применения экспериментальной олигонуклеотидной терапевтической конструкции, направленной на блокирование экспрессии гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Для реализации данной цели был поставлен ряд объективных задач, логически вытекающих одна из другой: оценить эффекты нокдауна на пролиферативную активность клеток меланомы, выраженность апоптоза in

vitro, определить влияние на динамику роста опухоли in vivo, определить токсические эффекты вводимой антисмысловой последовательности.

Диссертационное исследование характеризуется грамотно построенным дизайном. В основе работы лежит оценка влияния экспериментальной олигонуклеотидной терапевтической конструкции, направленной на блокировку экспрессии гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Исследование также включает оценку апоптотических процессов на клетки меланомы мышей, клеточный цикл, метаболическая и миграционная активность клеток, редукция опухоли у мышей, нарушение пролиферации клеток меланомы.

Диссертация включает достаточный объем материала и количество наблюдений для подтверждения достоверности научных положений и выводов, изложенных в диссертации. Обработка полученных данных выполнена с использованием современных методов статистического анализа, с использованием параметрического метода (Т-критерий Стьюдента) и нормальности распределения признака (Шапиро-Вилка), что подтверждает достоверность полученных данных.

Сформулированные научные положения и выводы, представленные в диссертационной работе Юрченко К.А., являются логичными, обоснованными и полностью вытекают из результатов собственных исследований. Выносимые на защиту научные положения аргументированы, отражают суть работы и соответствуют сделанным выводам.

Научная новизна и практическая значимость результатов исследований, конкретные рекомендации по их использованию.

В представленной работе впервые проведено комплексное исследование эффективности антисмыслового олигонуклеотида Skeen-11, относящегося к классу тиофосфатных производных и нацеленного на блокировку экспрессии гена, вовлеченного в метаболическую перестройку опухолевых клеток.

При постановке опытов in vitro с использованием культуры мышиных клеток меланомы линии Clone M-3 было показано, что Skeen-11 способен значительно угнетать их пролиферацию. Под действием олигонуклеотида рост культуры заметно замедлялся, что позволяет говорить о его противоопухолевой активности уже на клеточном уровне.

В рамках работы впервые оценивалось влияние Skeen-11 на метаболическую активность клеток меланомы. Для этого использовали три разные концентрации соединения, и было установлено, что эффект носит четко выраженный дозозависимый характер.

Кроме того, впервые было продемонстрировано, что воздействие антисмысловых олигонуклеотидов Skeen-11 инициирует в меланомных клетках массивную активацию апоптоза. Доля клеток, вовлекаемых в программируемую гибель, достигала подавляющего большинства, что свидетельствует о том, что подавление гена-мишени олигонуклеотидом создает условия, несовместимые с существованием опухолевых клеток.

Наряду с запуском апоптоза, впервые зафиксировано еще одно ключевое изменение — задержка клеточного цикла в S-фазе. Поскольку эта фаза соответствует периоду синтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты, ее блокировка означает утрату клетками способности к репликации генетического материала и, следовательно, к последующим делениям. Сочетание этих двух эффектов — интенсивного апоптоза и остановки клеточного цикла — служит объяснением высокой противоопухолевой активности Skeen-11, подтвержденной как в культуре клеток, так и в экспериментах на животных.

В работе также впервые показано, что после обработки олигонуклеотидом миграционная способность клеток меланомы существенно снижается. Учитывая, что миграционная активность определяет способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию, данный результат позволяет заключить, что Skeen-11 не только тормозит размножение и

вызывает гибель клеток, но и ограничивает их потенциальную способность к распространению за пределы первичного очага.

Значительное внимание в исследовании уделено оценке стабильности олигонуклеотида Skeen-11 в биологических средах. Впервые установлено, что данное соединение характеризуется высокой устойчивостью в клеточном гомогенате. Это подтверждает эффективность использованной тиофосфатной модификации, позволяющей защитить олигонуклеотид от преждевременного разрушения внутриклеточными нуклеазами.

Результаты вышеуказанных экспериментов свидетельствуют о терапевтическом потенциале изучаемого соединения. В группе мышей, получавших лечение, размеры опухолевого узла уменьшились более чем наполовину в сравнении с контрольными животными. Данное снижение является клинически значимым и подтверждает, что эффекты, наблюдаемые in vitro, воспроизводятся в условиях целостного организма. Использованный перитуморальный путь введения позволил достичь локального терапевтического воздействия, что потенциально снижает системную нагрузку на организм.

Практические рекомендации, которые автор приводит в диссертационной работе, являются перспективными и полезными для фундаментальной медицины.

Степень завершенности исследования в целом и качество диссертации и автореферата.

Диссертационная работа Юрченко К.А. представляет собой классическое патофизиологическое исследование, имеет традиционную структуру и разделы. В тексте диссертации встречаются некоторые опечатки и неточности, однако они являются незначимыми по своей сути и не омрачают общее положительное впечатление от работы.

Стоит отметить, что в диссертационной работе и автореферате использовано большое количество современных литературных источников.

Обзор литературы достаточно полно освещает современное состояние изучаемой проблемы, актуальность выбранной темы.

Во второй главе детально представлен дизайн работы, подробно описаны материалы и методы исследования, методы статистической обработки полученных экспериментальных данных.

Результаты диссертационного исследования изложены последовательно, структурировано, рисунки и микрофотографии приведены в хорошем качестве, снабжены указаниями описываемых структур, что делает их наглядными и легко воспринимаемыми.

Стоит отметить подробное изложение мыслей и гипотез в обсуждении, где автор максимально проработала различные источники литературы зарубежных и отечественных авторов, рассматривает различные патогенетические механизмы, которыми можно было бы объяснить полученные результаты.

Сформулированные автором выводы полностью согласуются с целью и задачами диссертационного исследования, логически вытекают из результатов проведенной работы.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные в диссертационной работе результаты являются актуальными и могут использоваться в научной и образовательной деятельности.

Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в учебной работе кафедры общей биологии и генетики Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», в учебной работе кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», в

практической работе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С. И. Георгиевского.

Полнота опубликования основных результатов исследования и соответствие автореферата основным положениям диссертации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 9 работ, из них, статьи, опубликованные в журналах, входящих в перечень ВАК – 2, 4 – тезисы в сборниках конференции, и 2 статьи входящие в международную базу данных Scopus, 1 патент РФ.

Результаты работы представлялись неоднократно на крупных Всероссийских и Международных научных форумах и конференциях.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Тем не менее, имеются некоторые вопросы дискуссионного характера, а именно:

1. Каким образом можно усилить специфичность эффектов антисмысловых олигонуклеотидов Skeen-11?
2. Возможно ли применение антисмысловых олигонуклеотидов Skeen-11 в комбинированной терапии с другими противоопухолевыми препаратами? Какие эффекты могут быть усилены и посредством каких механизмов?

Автореферат диссертации составлен с соблюдением установленных требований, даёт полное представление о сути выполненной научной работы и соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Юрченко Ксении Андреевны «Ингибиторный эффект тиофосфатного антисмыслового олигонуклеотида против матричной РНК гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы меланомы мышей», представленную к защите на соискание ученой степени является законченной научно-квалификационной работой, выполненной персонально

диссертантом. Диссертационная работа содержит новое решение актуальной научной проблемы, характеризующейся подавлением пролиферации клеток меланомы, апоптоза, нарушением клеточного цикла и уменьшением экспрессии гена Г6ФД, играющего важную роль в метаболической активности меланомы, что имеет существенное значение для патофизиологии и фундаментальной медицины в целом.

Диссертация Юрченко К.А. по своей форме, использованным методам исследования, научному содержанию, актуальности изучаемой проблемы полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 20.03.2021 № 426), в части требований, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Юрченко К.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

Заведующая кафедрой патологической
физиологии имени профессора В.В. Иванова
ФГБОУ ВО
«Красноярский государственный
медицинский университет
имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор
медицинских наук, профессор Рукша Татьяна Геннадьевна

Подпись Рукша Медведева Н.Н.
УДОСТОВЕРЯЮ:
специалист отдела кадров:
(подпись) (расшифровка подписи)
«19» мая 2026 г.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1Ж.
E-mail: rector@krasgmu.ru
Телефон: +7 (391) 228 36 49
Сайт: https: https://krasgmu.ru

Подпись Рукша Т.Г. Заверяю

Ученый секретарь Ученого Совета КрасГМУ, д.м.н., проф. Медведева Н.Н.