

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы Сушко Екатерины Сергеевны «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биолюминесцентных тестовых систем» профилю диссертационного совета 24.1.038.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям

Комиссия в составе – д.б.н., проф. Пальминой Н. П., д.б.н., проф. Розенфельда М.А., д.х.н., проф. Шишкиной Л. Н. – констатирует, что диссертационная работа констатирует, что диссертационная работа «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биолюминесцентных тестовых систем» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие **основные научные результаты** диссертационной работы и ее **новизну**:

Исследование Сушко Е. С. направлено на выявление эффективности и механизмов воздействия ряда фуллеренолов на клеточную систему (морские люминесцентные бактерии) на основе связей между структурными характеристиками фуллеренолов и параметрами их биологической активности – токсичностью и антиоксидантной активностью. Изучено влияние фуллеренолов как на интегральную физиологическую функцию бактерий – интенсивность биолюминесценции, так и на скорость ферментативных процессов и содержание активных форм кислорода в бактериальной суспензии. Для изучения биологической активности фуллеренолов впервые были применены биолюминесцентные тестовые системы различной сложности (морские бактерии *P. phosphoreum* и ферментативная система НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза – люцифераза). Использование этих двух типов систем позволило выявить и сравнить клеточные и биохимические процессы, ответственные за антиоксидантные и токсические эффекты фуллеренолов разного строения.

В работе Сушко Е. С. продемонстрировано, что фуллеренолы токсичны при высоких концентрациях и проявляют антиоксидантную активность при низких концентрациях, при этом антиоксидантный эффект фуллеренолов зависит от амфифильных характеристик среды и максимален в растворах органического окислителя – 1,4-бензохинона. Меньшей токсичностью и большей антиоксидантной активностью обладают фуллеренолы, в структуре которых количество кислородосодержащих групп примерно в 2 раза меньше количества атомов углерода в каркасе фуллеренола («гипотеза $\frac{1}{2}$ »), что связано с оптимальным соотношением размера фрагментов гидрофобной π -системы и количества полярных кислородосодержащих групп. Также продемонстрировано, что фуллеренолы, не модифицированные металлами, интенсивнее ингибируют биолюминесценцию бактериальной системы, чем ферментативной, что объясняется наличием дополнительных путей воздействия на гидрофобные фрагменты

клеточной мембраны. Показано, что токсичность и антиоксидантная активность фуллеренолов связаны с уменьшением содержания АФК в бактериальных суспензиях и растворах ферментов.

На примере $C_{60}O_y(OH)_x$ ($x + y = 24-28$) показано, что фуллеренолы ускоряют автоокисление НАДН в ферментативном и неферментативном процессе, а также окисление НАДН эндогенным окислителем ФМН в ферментативном процессе, что вносит вклад соответственно в уменьшение и увеличение скорости биоллюминесцентной реакции.

Степень достоверности полученных результатов.

Достоверность и обоснованность результатов подтверждается использованием стандартных методик, калибровкой измерительной аппаратуры, воспроизводимостью результатов, согласием полученных экспериментальных результатов с данными других авторов. При проверке достоверности результатов экспериментов и обоснованности выводов по этим результатам, различия между показателями независимых выборок оценивали в соответствии с критерием Стьюдента (t). Значения считали достоверными при уровне значимости более 95% ($p < 0,05$).

Практическая и научная значимость результатов диссертационной работы:

1. Разработанные биоллюминесцентные методы и подходы могут использоваться в экологии, фармакологии и медицине для определения и сравнения антиоксидантной активности и токсических свойств биологически активных веществ. Разработанная методология включает комплекс методов: биоллюминесцентные – с использованием бактерий и их ферментативных систем, хемиллюминесцентный – для мониторинга содержания активных форм кислорода, спектрофотометрический – для контроля условий эксперимента и определения участия НАДН-зависимых окислительно-восстановительных процессов.

2. Полученные результаты формируют базу данных для подбора фуллеренолов с заданными токсическими и антиоксидантными характеристиками, что поможет биологам и медикам снизить количество экспериментов на животных.

3. Фундаментальные результаты исследований могут быть использованы в образовательном процессе студентов-медиков, фармакологов, биологов.

Основные результаты работы опубликованы в 19 печатных работах, включающих 8 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus) и тезисы 11 докладов в сборниках трудов научных конференций, входящих в базы данных Web of Science, Scopus и РИНЦ.

Список основных печатных работ:

Статьи в международных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus:

1. Stepin, E. A. Effects of Endohedral Gd-Containing Fullerenols with a Different Number of Oxygen Substituents on Bacterial Bioluminescence / E. A. Stepin, **E. S. Sushko**, N. G. Vnukova, G. N. Churilov, A. V. Rogova, F. N. Tomilin, N. S. Kudryasheva // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – V. 25, № 2. – P. 708.

2. **Sushko, E. S.** Endohedral Gd-Containing Fullerene: Toxicity, Antioxidant Activity and Regulation of Reactive Oxygen Species in Cellular and Enzymatic Systems / E. S. Sushko, N. G. Vnukova, G. N. Churilov, N. S. Kudryasheva // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23, № 9. – P. 5152.

3. **Kovel (Sushko), E. S.** Toxicity and Antioxidant Activity of Fullerene C_{60,70} with Low Number of Oxygen Substituents / E. S. Kovel (Sushko), A. G. Kicheeva, N. G. Vnukova, G. N. Churilov, E. A. Stepin, N. S. Kudryasheva // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22, №12. – P. 6382.

4. Kudryasheva, N. S. Monitoring of Low-Intensity Exposures via Luminescent Bioassays of Different Complexity: Cells, Enzyme Reactions, and Fluorescent Proteins / N. S. Kudryasheva, **E. S. Kovel (Sushko)** // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – V. 20, № 18. – P. 4451.

5. **Kovel (Sushko), E. S.** Antioxidant activity and toxicity of fullerenols via bioluminescence signaling: Role of oxygen substituents / E. S. Kovel (Sushko), A. S. Sachkova, N. G. Vnukova, G. N. Churilov, E. M. Knyazeva, N. S. Kudryasheva // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – V. 20, № 9. – P. 2324.

6. Sachkova, A. S. Biological activity of carbonic nano-structures – comparison via enzymatic bioassay / A. S. Sachkova, **E. S. Kovel (Sushko)**, G. N. Churilov, D. I. Stom, N. S. Kudryasheva // Journal of Soils and Sediments. – 2018. – V. 19, № 6. – P. 2689–2696.

7. Sachkova, A. S. On mechanism of antioxidant effect of fullerenols / A. S. Sachkova, **E. S. Kovel (Sushko)**, G. N. Churilov, O. A. Guseynov, A. A. Bondar, I. A. Dubinina, N. S. Kudryasheva // Biochemistry and Biophysics Reports. – 2018. – V. 9. – P. 1–8.

8. Kudryasheva, N. S. Bioluminescent Enzymatic Assay as a Tool for Studying Antioxidant Activity and Toxicity of Bioactive Compounds / N. S. Kudryasheva, **E. S. Kovel (Sushko)**, A. S. Sachkova, A. A. Vorobeva, V. G. Isakova, G. N. Churilov // Photochemistry and Photobiology. – 2017. – V. 93, № 2. – P. 536–540.

Публикации в материалах конференций, индексируемых в Web of Science, Scopus:

1. Sachkova, A. S. Antioxidant Activity of Fullerenols. Bioluminescent Monitoring in vitro / A. S. Sachkova, **E. S. Kovel (Sushko)**, A. A. Vorobeva, N. S. Kudryasheva // BIOSENSORS. – 2017. – V. 27. – P. 230–231.

2. Tarasova, A. Use of bioluminescent enzyme system to detect antioxidant activity of fullerene C₆₀O_y(OH)_(x) / A. Tarasova, N. Kudryasheva, **E. Kovel (Sushko)**, G. Churilov, N. Vnukova, V. Isakova, I. Osipova // Luminescence. – 2014. – V. 29 (S1). – P. 100–101.

Публикации в материалах конференций, индексируемых в РИНЦ:

1. Сушко, Е. С. Биологическая активность фуллеренолов различной структуры. Роль активных форм кислорода. Биолюминесцентный мониторинг / Е. С. Сушко, А. С. Сачкова, Н. Г. Внукова, Г. Н. Чурилов, Е. А. Степин, А. Г. Кичеева, Н. С. Кудряшева // Сборник научных трудов VII Съезда биофизиков России. В 2 томах. Т. 2 / Кубанский государственный технологический университет. – Краснодар, 2023. – С. 11.

2. Ковель (Сушко) Е. С. Биологическая активность фуллеренолов. Роль кислородосодержащих заместителей. Биолюминесцентный мониторинг / Е. С. Ковель (Сушко), А. С. Сачкова, Н. С. Кудряшева // Материалы III объединенного научного форума физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII съезда биохимиков России, X российского симпозиума «Белки и пептиды», VII съезда физиологов СНГ / Издательство «Перо». – Москва, 2021. – С. 193.

3. Кичеева, А. Г. Токсичность и антиоксидантная активность фуллеренола $C_{60,70}$ с низким числом кислородных заместителей / А. Г. Кичеева, Е. С. Ковель (Сушко), Н. С. Кудряшева // Сборник материалов Международной сателлитной конференции «Экологический мониторинг: методы и подходы» и XX Международного симпозиума «Сложные системы в экстремальных условиях» / Сибирский федеральный университет. – Красноярск, 2021. – С. 105–107.

4. Ковель (Сушко), Е. С. Токсичные, прооксидантные и антиоксидантные свойства наночастиц. Биолюминесцентный мониторинг *in vitro* / Е. С. Ковель (Сушко), Л. С. Бондаренко, К. А. Кыдралиева, Г. И. Джардималиева, Э. Илия, Э. Томбач, А. С. Сачкова, Н. Г. Внукова, Г. Н. Чурилов, А. Г. Кичеева, Н. С. Кудряшева // Сборник материалов Международной сателлитной конференции «Экологический мониторинг: методы и подходы» и XX Международного симпозиума «Сложные системы в экстремальных условиях» / Сибирский федеральный университет. – Красноярск, 2021. – С. 113–114.

5. Ковель (Сушко), Е. С. Токсичность и антиоксидантная активность фуллеренолов. Биолюминесцентный мониторинг / Е. С. Ковель (Сушко), Н. С. Кудряшева, А. С. Сачкова // Биофизика : сборник тезисов VI Международной конференции молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов / АНО «Иннов. Центр Кольцово». – Новосибирск, 2019. – С. 276–278.

6. Ковель (Сушко), Е. С. Токсичность и антиоксидантная активность фуллеренолов. Роль кислородосодержащих заместителей. Биолюминесцентный мониторинг / Е. С. Ковель (Сушко), Н. С. Кудряшева, А. С. Сачкова // Действие физико-химических факторов на биологические системы: сборник научных трудов VI Съезда биофизиков России. В 2 томах. Т. 2 / Полиграфическое объединение «Плехановец». – Краснодар, 2019. – С. 41.

7. Кудряшева Н. С. Негенетические механизмы токсических и адаптационных эффектов. Изучение с помощью люминесцентных тестовых систем различной сложности – клеток, ферментативных реакций и флуоресцентных белков / Н. С. Кудряшева, Р. Р. Алиева, Т. В. Рожко, Е. И. Ноговицына, Е. С. Ковель (Сушко), А. С.

Сачкова // Действие физико-химических факторов на биологические системы : сборник научных трудов VI Съезда биофизиков России. В 2 томах. Т. 2 / Полиграфическое объединение «Плехановец». – Краснодар, 2019. – С. 42–43.

8. Kudryasheva, N. S. Toxic and adaptive effects via luminescent assay of different complexity: bacterial cells, enzyme reactions, and fluorescent proteins / N. S. Kudryasheva, R. R. Alieva, T. V. Rozhko, A. S. Petrova, A. A. Lukonina, **E. S. Kovel**, A. S. Sachkova // Материалы XIX Всероссийского симпозиума с международным участием «Сложные системы в экстремальных условиях» / ФГБНУ «ФИЦ «КНЦ СО РАН». – Красноярск, 2018. – С. 124–126.

9. **Kovel (Sushko), E. S.** Use of bioluminescent assay systems to detect antioxidant activity of fullerenols / E. S. Kovel (Sushko), A. S. Sachkova, G. N. Churilov, N. S. Kudryasheva // Химия : Сборник научных трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук». В 7 томах. Т. 2 / Томский политехнический университет. – Томск, 2016. – С. 217–219.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 (в редакции Постановления Правительства РФ от 20.03.2021 г. № 426), а также от 25.01.2024 г. № 62).

Диссертация не содержит заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источники заимствования. В диссертации даны ссылки на результаты работ, выполненные Сушко Е. С. в соавторстве с Кудряшевой Н. С., Сачковой (Тарасовой) А. С., Внуковой Н. Г., Чуриловым Г. Н., Степиным Е. А., Кичеевой А. Г., Роговой А. В, Томилиным Ф. Н., Князевой Е. М., Стомом Д. И., Гусейновым О. А., Бондарь А. А., Дубининой И. А., Воробьевой А. А., Исаковой В. Г. и др.

Диссертация Сушко Е. С. «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биoluminesцентных тестовых систем» отвечает требованиям, установленным пунктами 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с последующими изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства РФ от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук.

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует диссертационному совету 24.1.038.01 принять к защите диссертационную работу Сушко Е. С. «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биoluminesцентных тестовых систем» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве **официальных оппонентов**:

– доктора биологических наук **Празднову Евгению Валерьевну**, заведующую лабораторией молекулярной генетики микробных консорциумов Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет»;

– доктора химических наук, профессора **Камнева Александра Анатольевича**, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

В качестве **ведущей организации** предлагается Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

Председатель комиссии:

д.б.н. профессор

Пальмина Н.П.

Члены комиссии:

д.б.н., профессор

Розенфельд М.А.

д.х.н., профессор

Шишкина Л.Н.