

## ОТЗЫВ

официального оппонента Праздновой Евгении Валерьевны на диссертацию Сушко Екатерины Сергеевны на тему: «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биолюминесцентных тестовых систем», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.2. Биофизика.

### **Актуальность темы выполненной работы**

Диссертационная работа Сушко Е. С. представляет собой законченное и актуальное исследование, посвященное изучению токсических и антиоксидантных свойств ряда химически различающихся фуллеренолов при помощи биолюминесцентных морских бактерий *Photobacterium phosphoreum*.

Актуальность работы достаточно высока, поскольку скрининг биологического действия фуллеренолов, учитывая разнообразие данной группы соединений, является обширной и малоизученной темой. Высокое качество исследования обусловлено рациональным выбором объекта для биотестирования, что существенно облегчает регистрацию действия фуллеренолов на физиологические функции микроорганизмов и повышает статистическую достоверность приведенного исследования. Помимо этого, биосовместимость и биологическая активность фуллеренолов может стать подспорьем для широкого применения этой группы соединений в фармакологии и медицине.

### **Обоснованность методических приемов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Положения и выводы исследования, сформулированные на основании обзора литературы, полученных экспериментальных данных, а также их интерпретации являются последовательными, аргументированными и обоснованными. Автором проведен анализ литературного материала, представленного 219 источниками в основной работе и 23 источниками в приложениях А и Б.

Автором была сформулирована цель – оценка и сравнение токсических и антиоксидантных эффектов фуллеренолов, различающихся количеством кислородосодержащих заместителей, размером углеродного каркаса и включением атома металла. После постановки цели были обозначены задачи, а полученные в результате применения методических подходов положения оказались логичными и обоснованными.

### **Методический уровень**

Выполнение работы производилось с применением биохимических и микробиологических методов. В качестве объекта для выявления и сравнения эффектов фуллеренолов на клеточном и биохимическом уровнях были выбраны клетки люминесцентных бактерий, их ферменты, а также мембраны.

Биолюминесцентный метод применялся для измерения интенсивности биолюминесценции в бактериальной и ферментативной системах при варьировании концентраций фуллеренолов. Спектрофотометрический метод использован для оценки влияния наночастиц на активность НАДН-зависимых процессов. С помощью хемиллюминесцентного метода определяли содержание АФК в условиях биолюминесцентных экспериментов, выявляли корреляции с характеристиками токсичности и антиоксидантной активности наночастиц.

**Личный вклад соискателя в разработку проблемы** присутствует на всех этапах выполнения работы и является определяющим. Часть экспериментальных результатов была получена совместно с Кичеевой А. Г. и Степиным Е. А. Вклад соавторов отражен в публикациях.

#### **Содержание диссертации**

Диссертационное исследование изложено на 113 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа проиллюстрирована 28 рисунками, 8 таблицами и содержит 2 приложения.

Во введении обоснована актуальность темы, определен предмет исследования, сформулированы цель и задачи, приведена оценка новизны, теоретической и практической значимости, приведены положения, выносимые на защиту, изложены сведения об апробации работы.

В обзоре литературы приведены результаты анализа публикаций отечественных и зарубежных авторов. Они изложены на 35 страницах и содержит три раздела, озаглавленные как «Люминесцентные процессы в биологических системах и их применение», «Фуллерены и их производные: структура, получение, свойства и применение» и «Модельные окислители. Свойства и применение».

В главе «Материалы и методы исследований» описаны условия проведения исследований и дается характеристика использованного экспериментального материала.

В главе 3 представлены результаты и обсуждение диссертационного исследования, оформленные в виде таблиц и рисунков. Обнаруженные по результатам исследования закономерности демонстрируют зависимость между химической структурой различных фуллеренолов и их токсическим, а также антиоксидантным воздействием на биологические системы.

В главе 3.1 раскрывается тема токсичности фуллеренолов, включая характеристику токсичности и роль активных форм кислорода в токсических эффектах фуллеренолов.

В главе 3.2 приведены результаты экспериментов по изучению антиоксидантной активности фуллеренолов, где подробно разбирается модельный окислительный стресс, коэффициенты антиоксидантной активности фуллеренолов в биолюминесцентных системах и роль активных форм кислорода в антиоксидантной активности фуллеренолов.

В главе 3.3 описаны результаты измерения скорости окисления НАДН в ферментативной системе.

Сделанные по результатам исследования выводы постулируют, что токсичность фуллеренолов наблюдается при высоких концентрациях, а антиоксидантная активность – при низких. Было продемонстрировано, что эти свойства связаны с химическими особенностями структуры фуллеренолов. В связи с этим была представлена «гипотеза 1/2»: наименьшей токсичностью и наибольшей антиоксидантной активностью обладают фуллеренолы, в структуре которых количество кислородосодержащих групп примерно в 2 раза меньше количества атомов углерода в каркасе фуллеренола. Показано, что наименьшую токсичность имеют металлосодержащие фуллеренолы, а фуллеренолы, не модифицированные атомами металлов, эффективнее ингибируют биолюминесценцию бактерий, чем ферментативную биолюминесценцию. Кроме этого, описаны механизмы токсичности, активации и антиоксидантной активности фуллеренолов.

Выводы, сделанные по результатам исследования, в целом подтверждают выдвинутые автором предположения.

### **Замечания и вопросы**

1. На стр. 24 указано, что «Свободные радикалы в организме подразделяют на 3 группы: первичные, вторичные и третичные», однако далее описаны только первые два типа.

2. Стилистика текста в некоторых фрагментах обзора литературы склоняется к научно-популярному изложению.

Например, на стр. 24 «Вторичные радикалы (...) стремятся отнять электроны у «полноценных» молекул» – термин «полноценные» скорее научно-популярный и не очень уместен в научном тексте.

3. На стр. 34 обсуждаются механизмы антиоксидантного действия фуллеренов с<sub>60</sub>. Стоит отметить, что есть еще один, связанный с возможным действием фуллерена как разобшителя.

4. В разделе Выводы есть утверждение, что «антиоксидантный эффект фуллеренолов (...) достигает 220%». Поясните, пожалуйста, биологический смысл антиоксидантного эффекта, превышающего 100%.

5. Вопрос по работе в целом: как Вы оцениваете возможность экстраполяции данных, полученных на прокариотических биосенсорах, на многоклеточных эукариот?

Указанные замечания не снижают ценности работы и в целом носят редакционный характер.

### **Заключение**

Ознакомление с диссертационными материалами Сушко Екатерины Сергеевны позволяет заключить, что работа представляет собой законченное исследование и соответствует специальности «биофизика». Диссертация

посвящена актуальной теме, автором получены значимые для фундаментальной науки и практических областей ее применения результаты.

К несомненным достоинствам работы следует отнести ее широкую методологическую базу. Работа содержит ряд новых данных, и ее результаты могут быть использованы для разработок в области фармакологии.

Таким образом, диссертация Сушко Е. С. «Токсические и антиоксидантные свойства фуллеренолов. Изучение с помощью биолюминесцентных тестовых систем» является самостоятельной и законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение научных задач, соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор – Сушко Екатерина Сергеевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Зав. лабораторией «Молекулярная генетика микробных консорциумов»  
д.б.н. Празднова Е.В.

344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1  
prazdnova@sfnu.ru  
+7 (908) 511-94-97

ФГАОУ ВО  
«Южный федеральный университет»



*Празднова Е. В.*

Член Совета  
Южного федерального университета  
Мирошниченко О.С.

*Подпись д.б.н. Празднова Е.В.*  
*заверию*  
*Директор Аполл*

*кажВки*

*23.09.2024*