

Отзыв

официального оппонента кандидата биологических наук Д.Н. Щербакова на диссертацию Фроловой Татьяны Сергеевны «Исследование механизма цитотоксического действия тритерпеновых кислот урсанового ряда», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Поиск веществ, способных избирательно уничтожать раковые клетки или тормозить их пролиферацию, является актуальной задачей. Решение этой задачи в настоящее время осуществляется двумя путями. Первый путь: поиск молекул с требуемыми свойствами из библиотек веществ, натуральных или создаваемых искусственно. Второй путь: конструирование молекул обладающих необходимыми свойствами. Впрочем, между этими подходами нет непреодолимой преграды, зачастую молекулы, отобранные из библиотек, становятся основой для разработки новых вариантов с улучшенными свойствами. В последнее время наблюдается тенденция к смещению интереса в области разработки противоопухолевых препаратов в сторону рекомбинантных белков (в основном это варианты моноклональных антител). В то же время, возможности, которые предоставляют нам, экстрактивные вещества растений, полностью не исчерпаны. Природное разнообразие, возникающее в результате вторичного метаболизма растений (и не только растений) настолько велико, что может быть источником большого числа соединений с необходимым спектром биологической активности. С этой точки зрения, растения эндемики, представляют повышенный интерес, потому что могут, являться дешевым и доступным источником фармакологически активных субстанций. Именно поэтому диссертационная работа Татьяны Сергеевны представляет огромный интерес и не вызывает сомнения в своей научной новизне.

Большой интерес представляет первая часть работы, посвященная изучению химического состава лекарственного растения *C. angustifolium*. Автором впервые обнаружено 6 тритерпеновых кислот. Для подробного изучения тритерпеноидов, извлекаемых из *C. Angustifolium*, Татьяной

Сергеевской была разработана и усовершенствована методика выделения в чистом виде урсоловой и помоловой кислот из сырья. Помимо этого, была изучена динамика накопления тритерпеновых кислот. Показано, что к концу периода вегетации их содержание достигает максимума. Исследовано распределение тритерпеновых кислот по вегетативным органам *C. angustifolium*.

С помощью бактериальных тест-систем, SOS-хромотеста и теста Эймса показано отсутствие генотоксических и мутагенных свойств у помоловой кислоты, выделенной из растительного сырья в чистом виде (96%). В тесте Эймса были исследованы защитные свойства помоловой кислоты: она существенно снижала мутагенный эффект NQO, но еще более выраженный защитный эффект она проявила как антиоксидант в тестах с t-BuO₂H.

Впервые автором был протестирован образец помоловой кислоты с помощью микробиологических тест-систем на наличие мутагенных, генотоксических и защитных свойств. Исследованы цитотоксические свойства на панели онкотрансформированных клеточных линий, позволяющей установить зависимость между цитотоксичностью и способностью тритерпеновых кислот вызывать апоптоз p53-зависимым и независимым путем.

Впервые исследованы цитотоксические свойства помоловой кислоты на онкотрансформированных клеточных линиях H1299, U87, HCT116 и MCF-7. Также показано, что помоловая кислота ингибирует рост клеток первичной глиомной культуры. При этом токсичность для культуры клеток первичных лимфоцитов была существенно ниже.

Автор пытается раскрыть механизмы цитотоксического действия помоловой кислоты. Татьяной Сергеевской показано, что помоловая кислота достоверно увеличивает долю клеток, находящихся на разных стадиях апоптоза. Опираясь на данные МТТ-теста и проточной цитофлюориметрии, автор предполагает, что ингибирующий эффект данного соединения может осуществляться несколькими путями. В частности, выявленная

вакуоляризация обработанных клеток, нехарактерная для апоптоза, свидетельствует, о том, что гибель может происходить в результате парптоза. Помимо индукции апоптоза на клетках линии MCF-7 показано, что помоловая кислота способна активировать АМФ-зависимую протеинкиназу, фермент, участвующий в контроле роста и развития клеток, а также являющийся супрессором опухолей.

С помощью компьютерного моделирования автором предложены мишени для связывания тритерпеновых кислот в онкотрансформированных клетках. Предложен новый подход для исследования проникновения и распределения тритерпеновых кислот урсанового ряда с использованием флюоресцентной метки. Проведен синтез по получению эпимеров меченой урсоловой кислоты, исследованы ее цитотоксические свойства и распределение в малигнизированных клетках.

Текст диссертационной работы представлен на 112 стр. и имеет классическую структуру представления: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результатов исследований, обсуждения, выводов и списка цитированной литературы. Нельзя не отметить, что диссертационная работа Татьяны Сергеевны выполнена на высоком методическом уровне, что подтверждается публикациями в рецензируемых международных журналах, входящих в список ВАК. Выводы исследования логически связаны с основным содержанием работы Фроловой Т.С.

Таким образом, работа Фроловой Татьяны Сергеевны «Исследование механизма цитотоксического действия тритерпеновых кислот урсанового ряда» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, содержащую решение фундаментальной задачи по выявлению цитотоксических свойств урсоловой и помоловой кислот и возможных механизмов этой активности. Это исследование имеет существенное значение для клеточной биологии и медицины. Диссертационная работа 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, и ее автор, Фролова Татьяна Сергеевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент:



Щербаков Д.Н.

Кандидат биологических наук
заведующий лабораторией иммунохимии
Федерального бюджетного
учреждения науки
«Государственный научный центр
вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека
630559, р.п. Кольцово Новосибирской области
Тел.: 8(383)3634700 (26-13)
vector@vector.nsc.ru
www.vector.nsc.ru

Подпись Д.Н. Щербакова заверяю:
Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора
к.б.н., доцент



24.01.2017 года



Плясунова О.А.