

Проректор по научной и исследовательской
деятельности

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования

«Южный федеральный университет»,
д.х.н. старший научный сотрудник



Метелица Анатолий Викторович

« 4 » декабря 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего
образования «Южный федеральный университет»

на диссертационную работу СМИРНОВОЙ Светланы Владимировны

«Влияние дейтерия на генотоксические эффекты химических соединений в клетках
Escherichia coli», представленную к защите в диссертационном совете 24.1.088.01

(Д 002.214.01) на базе ФГБНУ «Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова»

Российской академии наук на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности **1.5.7. Генетика**

Актуальность работы. Диссертационная работа Смирновой С.В. посвящена интересной и актуальной теме - исследованию модифицирующего действия дейтерия на индуцирующий SOS-ответ эффект генотоксичных агентов и на активацию экспрессии *ada*-регулона в ответ на повреждение ДНК алкилирующими соединениями. Целью настоящей работы являлось изучение модифицирующего действия дейтерия на активность химических генотоксикантов в прокариотической клетке, т.е. изучение влияния дейтерирования на процессы индукции экспрессии генов, обусловленные повреждением ДНК в бактериальной клетке. Для реализации этой цели диссертантом были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние дейтерия на индуцированный генотоксикантами SOS-ответ в клетках *Escherichia coli*.

2. Исследовать влияние оксида дейтерия на токсический эффект химических соединений в бактериальной клетке.

3. Изучить действие дейтерия на индукцию алкилирующими соединениями активности *ada*-регулона в клетках биосенсора *E. coli* K12 MG1655 (pAlkA::lux).

Актуальность темы диссертации объясняется высокой практической значимостью технологии дейтерирования лекарственных препаратов, так как процесс замены протия на

дейтерий влияет на транспорт лекарственных препаратов, улучшая поступление препарата в необходимые ткани, а также может влиять на устойчивость лекарственных средств к их инактивации. Таким образом были получены более эффективные противомикробные препараты.

Несмотря на длительную историю изучения влияния тяжелого изотопа водорода на живые организмы и определенный прогресс в данной теме, исследований эффектов дейтерия на уровне генетических процессов пока недостаточно. При этом активно ведутся исследования по разработке дейтерированных препаратов. Это показывает актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы.

Структура и содержание работы.

Диссертация написана по стандартному плану и включает в себя следующие главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы» и «Приложение».

В «Введении» представлены актуальность, научная новизна и практическая значимость исследования.

В главе «Обзор литературы» проведен анализ темы исследования и рассмотрены изотопные эффекты дейтерия, влияние оксида дейтерия на биологические системы, его использование в фармакологии и генетические эффекты тяжелого изотопа водорода. Помимо этого, подробно рассмотрены индуцибельные процессы *Escherichia coli*: SOS-ответ на повреждение ДНК генотоксикантами и экспрессия *ada*-регулона в ответ на действие алкилирующих соединений.

В «Материалах и методах» подробно описаны экспериментальные методики и подходы, используемые для решения поставленных в рамках диссертационной работы задач. Подобранные методы соответствуют предъявляемым к диссертационным работам критериям воспроизводимости.

Описание проведенных работ и обсуждение полученных результатов в полной мере описаны в главе «Результаты и обсуждение». Глава содержит 4 раздела. В первом из них описаны и проанализированы результаты определения амплитуды ответа используемых в работе биосенсоров, установлены пороговые и эффективные дозы генотоксикантов. Во втором разделе представлены и обсуждены результаты анализа эффективного режима дейтерирования. Третий раздел включает результаты исследования модифицирующего действия дейтерия на индуцибельные процессы в клетках *E. coli*, включая сравнение эффектов дейтерия среди разных групп исследуемых генотоксикантов и подтверждение потенцирующего действия D₂O на эффект алкилирующих агентов методом ОТ-ПЦР. Наконец, четвертый раздел описывает результаты совместной токсичности дейтерия и генотоксикантов у биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA::*lux*).

В главе «Заключение» обобщены полученные результаты. В разделе «Выводы» сформулированы основные выводы исследования, строго соответствующие поставленным задачам.

Работа изложена на 135 страницах машинописного текста, включая 4 страницы Приложений, содержит 16 рисунков и 17 таблиц. Список цитируемых литературных источников включает 243 наименований, из которых 232 - на английском языке.

Научная новизна и значимость исследования.

В рамках диссертационной работы Смирновой С.В. впервые исследуется модифицирующее действие D₂O на генотоксическое воздействие химических соединений и ультрафиолетового излучения (УФ). Данные о генетических эффектах дейтерия позволят обозначить тенденции влияния дейтерированных препаратов на организм человека.

Из 16 исследуемых мутагенов 10 используются в качестве фармпрепаратов, в виде бактерицидных средств: налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, диоксидин, фурацилин и перекись водорода; противоопухолевых цитостатиков: митомицин С, цис-платина, нитрозометилмочевина, стрептозотоцин и антиметаболита - 5-фторурацил. Для всех указанных препаратов было обнаружено потенцирующее действие дейтерия, что может быть рассмотрено к применению в медицинской практике для усиления эффекта выше указанных средств, например, при химиотерапии опухолей.

Впервые изучено влияние D₂O на индукцию SOS-ответа в клетке *E.coli*, при этом исследовалась индукция экспрессии генов регулона, отвечающих за разные этапы SOS-репарации, что может быть полезно для более детального понимания механизмов репарации.

Впервые исследовано действие дейтерия на активацию экспрессии *ada*-регулона алкилирующими соединениями: метилметансульфонатом, N-нитрозо-N-метилмочевинной и стрептозотоцином. У человека гомолог продукта гена *ada E. coli* влияет на отсутствие чувствительности химиотерапии опухолей с использованием алкилирующих цитостатиков. Таким образом, полученные результаты увеличения активности последних оксидом дейтерия, может быть в дальнейшем исследовано для применения в терапии.

В работе впервые описан интереснейший феномен усиления дейтерием генотоксичности и антимикробного действия ультрафиолетового излучения.

Все вышеуказанное говорит о высокой практической и теоретической значимости, а также научной новизне полученных в рамках диссертационной работы результатах Смирновой С.В.

Замечания к работе.

Несмотря на высокое качество рецензируемой работы, имеются следующие замечания:

1. В работе используется написание терминов: «lux-биосенсор», «*ada*-регулон», «lux-оперон»; как курсивом, так и без.

2. В тексте встречаются терминологические неточности. Например, использованы три названия для одного соединения: «цисплатина», «*цис*-платина», «цис-платин».

3. Из «Материалов и методов» не ясна логика выбора генотоксикантов для проведения анализа влияния токсичности на результаты люминесценции биосенсора *E.coli* MG1655 (pRecA::lux).

Заключение.

Диссертационная работа Смирновой С.В. на тему «Влияние дейтерия на генотоксические эффекты химических соединений в клетках *Escherichia coli*» соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, которую можно квалифицировать, как имеющую важное теоретическое и прикладное значение, а её автор, Смирнова Светлана Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Отзыв подготовлен Чистяковым Владимиром Анатольевичем, доктором биологических наук, старшим научным сотрудником, главным научным сотрудником студенческой научно-исследовательской лаборатории новых биопрепаратов Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ (344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1, тел. 89094409075, эл.почта vladimirchi@sfedu.ru).

Отзыв ведущей организации обсужден и утвержден на совместном заседании кафедры генетики, студенческой научно-исследовательской лаборатории новых биопрепаратов и лаборатории молекулярной генетики микробных консорциумов Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ - протокол № 11 от «29» ноября 2023 г.

Заведующий кафедрой генетики,
Академии биологии и биотехнологии
им. Д.И. Ивановского
Южного федерального университета,
д.б.н., профессор



Шкурат Татьяна Павловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Личную подпись Шкурат Т.П.

ЗАВЕРЕНО:

Главный специалист по управлению персоналом

Шкурат Т.П.
« 4 » декабря 2023 г.



Чистяков Владимир Анатольевич
д.б.н., с.н.с., г.н.с., с.н.с.и.б.п.
Академии биологии и биотехнологии
им. Д.И. Иванова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Личную подпись Чистякова В.А.

ЗАВЕРЕНО:

Главный специалист по управлению персоналом

Шкурат Т.П.
« 4 » декабря 2023 г.