

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертацію Полохіної Катерини Володимирівни
«ДНК-зв'язуюча та антиканцерогенна активність кластерних сполук
ренію з біологічно активними лігандами», подану на здобуття наукового
ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Актуальність теми дисертаційної роботи. Причини і механізми канцерогенезу являють собою загально біологічну проблему, оскільки пухлинна клітина відрізняється від звичайної клітини, перш за все, здатністю до безмежного і неконтрольованого поділу, тобто вони переходять в категорію «іммортальних» клітин. При цьому пухлинні клітини втрачають диференціювання, перестають виконувати функції відповідної тканини, і найважливіше, ці властивості передаються у спадок, тобто формується «пухлинна тканина». Пухлини втрачають чутливість до дії регуляторних факторів, на відміну від природнього механізму регенерації тканин. Втрата чутливості до регуляторних сигналів є головною перешкодою в боротьбі з онкологічними процесами. Виходячи з цього, основні підходи при боротьбі з цією патологією засновані на пошуку і дослідженні різноманітних ксенобіотиків і фізичних факторів, здатних пригнічувати процес проліферації. У вирішенні цього важливого питання можуть бути використані дві стратегії: опосередкований вплив на механізми проліферації і «прямий» вплив на механізм реплікації ДНК.

Щодо завдань та дизайну експериментального підходу. Полохіна К. В. в своїй дисертації дослідила можливості прямого зв'язування кластерних сполук ренію з фосфатними, адамантильними, бета-аланіновими, гамма-аміномасляними та ферулатними лігандами з суперспіралізованою ДНК, лейкемійних клітин і їх протипухлинні властивості в моделі канцерогенезу.

Тому, дисертаційна робота, яку виконала Катерина Володимирівна, є актуальною і важливою в боротьбі з канцерогенезом.

Для досягнення мети, яка на жаль сформульована «складно», автор вирішила 4 основних завдання.

На першому етапі дослідження автор визначала зв'язування

(але не взаємодію) комплексів сполук ренію з ДНК тимуса телят, після цього були визначені зв'язуючі здатності кластерних сполук ренію з олігонуклеотидами, і виконано логічний перехід до визначення цитотоксичної активності кластерних сполук ренію з бета-аланіновими лігандами і цисплатином в розчинах, і до ліпосомальних форм на клітинах Jurkat Т-лімфобластної лейкемії людини. На завершальному етапі роботи автор визначила протипухлинну активність кластерних сполук ренію (III) в системі *in vivo*.

Аналіз постановки завдань дає підстави стверджувати, що виконана робота є логічним і завершеним науковим дослідженням, яке вказує на подальший оптимальний пошук антиканцерогенних субстанцій. Оскільки успіх роботи визначається правильним підбором адекватних методів дослідження, то зупинимося на методах та ідеї роботи.

Реній і його сполуки були синтезовані на кафедрі неорганічної хімії Українського Державного хіміко-технологічного університету. Далі автор наводить перелік з пункту 1.1. з'єднань, які використовувалися в роботі. Автор описує об'єкти дослідження і моделі, які використовувалися в роботі.

В окремому розділі описуються методи визначення констант зв'язування кластерів ренію з ДНК з олігонуклеотидами і біологічними лігандами.

Детально описано визначення цитотоксичності і модель пухлинного росту. Автор дає опис методу визначення кількості еритроцитів і гемоглобіну та непараметричні методи обробки даних.

Автор не описує методи виділення ДНК і отримання олігонуклеотидів.

У таблиці 3.10 наведені дані за вмістом продуктів ТБК, активність супероксиддисмутази і каталази в еритроцитах. До даних цієї таблиці є кілька питань:

- 1. У розділі МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ не описаний метод визначення цих показників.**
- 2. Назва таблиці – «Оксидативний стрес еритроцитів».**
- 3. Як Ви поясните відсутність кореляції між вмістом малонового діальдегіду**

(МДА) і активністю антиоксидантних ферментів?

Висновок до методів дослідження: Методи дослідження, описані в повному обсязі і необхідно пояснення автора.

Повертаючись до структури дисертації, необхідно відзначити, що в розділі, який присвячено огляду літературних даних, автор назвав цей розділ «Взаємодія метало-органічних сполук з біологічно активними лігандами з нуклеїновими кислотами та їх антиканцерогенна активність». Про які взаємодії йдеться?

Автор зробила гарний і досить повний аналіз даних літератури. Привела роботи, які показали, що комплекс реній-платина володіли найвищою цитотоксичною активністю по відношенню до клітин пухлини. Найбільшою активністю в порівняльних дослідженнях мали ліпосомальні форми ренію. Цей розділ складається з 4 підрозділів і 20 малюнків, викладений на 40 сторінках, тобто 39% від всієї дисертації, на наш погляд, огляд літератури є занадто великим .

Результати власних досліджень представлені в 2 розділах і займають 47 сторінок. Перший розділ присвячений ДНК-зв'язуючій та антиканцерогенній активності кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами.

Автор показала, що комплексні сполуки ренію (III) здатні взаємодіяти з олігонуклеотидами і досягає 73%. Цікаво, що механізми зв'язування комплексних сполук ренію (III) з олігонуклеотидами відрізняються від механізму зв'язування цисплатину. Цей факт дозволяє припустити, що загальний вплив цисплатину і ренію (III) в комплексі біологічно активних ліганд органічної природи зв'язуються на 10-15% сильніше з олігонуклеотидами ніж біядерні алкілкарбоксілати ренію. Це дозволило автору припустити перспективність подальшого пошуку сполук, здатних зв'язуватися з молекулами ДНК.

Таким чином в першому розділі власних досліджень автор показала здатність кластерних сполук ренію зв'язуватися з молекулами ДНК в системі *in vivo*. Безсумнівно, це важливий етап антиканцерогенної активності досліджуваних сполук. Однак, з отриманих даних не випливає, що в організмі комплексні сполуки ренію (III) будуть також утворювати комплекси з ДНК. І в цьому відношенні

подальші дослідження можуть бути спрямовані як на дослідження зв'язування сполук ренію з хроматином в системі *in vivo*, так і на пряме дослідження антиканцерогенної активності кластерних сполук ренію. Автор вибрала другий шлях, і це цілком виправдано. Результати цих досліджень Катерина Володимирівна виклала у другому розділі, який був названий «Антиканцерогенна активність кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами».

Для вирішення цього питання автор використовувала культуру клітин лінії Jurkat, яка є лімфоїдними трансформованими клітинами людини. Про прояв цитотоксичності судили за оцінкою життєздатності по тесту з трипановим синім. Прийшли до висновку, що розчин Recis- β Ala виявляв цитотоксичність, близьку до цитотоксичності цисплатина. Включення досліджуваних субстанцій в ліпосомах разом з цитостатиками збільшували цитотоксичність.

При дослідженні антиканцерогенної активності на моделі пухлини Герена показали пригнічення росту пухлини.

Отримані автором результати становлять безсумнівний науковий інтерес.

Робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біофізики та біохімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара у рамках держбюджетної теми «Дослідження антиоксидантних та антиканцерогенних властивостей наноліпосом та наночасток на основі кластерних сполук Ренію» (номер державної реєстрації 0110U001289, 2010-2013 рр.), згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету у рамках держбюджетної теми №43/201490 «Синтез сполук ренію з антиоксидантними і люмінесцентними властивостями та дослідження їхньої специфічної взаємодії з біологічними молекулами» (номер державної реєстрації 0120U101957, 2020-2022 рр.). Експеримент з клітинами Jurkat було проведено в Інституті клітинної біології Національної академії наук України (Львів). Експерименти з олігонуклеотидами виконувалися в Університеті Фрідріх-Александр (Єрланген-Нюрнберг, Німеччина).

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.

Знайомство з дисертаційною роботою Полохіної К.В. залишає позитивне враження. Разом з тим, в роботі, на жаль, має місце також ряд недоліків і неточностей.

1. Робота містить безліч помилок. У роботі сформульовані 4 завдання. Завдання № 4 відзначено як 2, деякі слова зустрічаються двічі, досить багато граматичних помилок.

2. У новизні і висновках автор пише: «Вперше досліджено зв'язування з суперспіралізованою ДНК тимуса». Використання нового об'єкта дослідження не відноситься до категорії новизни. До цієї категорії відноситься новий і принципово важливий результат.

3. На жаль, на деяких таблицях не показано достовірні відмінності (рис. 3.3., 3.4., 3.6., 3.7. Та ін.).

4. На деяких малюнках не позначені осі або тільки одна вісь (рис.3.3.), або позначені англійською мовою (рис.3.7.).

Заключення. Незважаючи на ці технічні зауваження, в роботі отримані нові цікаві наукові результати. Матеріали роботи доповідалися на наукових конференціях і пройшли апробацію. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, з яких: 5 статей (4 статті у виданнях, які входять до переліку фахових видань України; 1 стаття у виданні, яке входить до міжнародної наукової бази Scopus) та 8 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

На основі виконаного об'єму експериментальних досліджень, отриманих нових результатів, їх інтерпретації, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Полохіної Катерини Володимирівни «ДНК-зв'язуюча та антиканцерогенна активність кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами» є завершеною науковою працею, яка відповідає вимогам п.п. 9,11,12,13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМУ N 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ №656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 та № 567 від 27.07.2016 р.) щодо оформлення результатів та їх аргументованої оцінки, а її

автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Директор Науково-дослідного інституту біології
завідувач кафедри молекулярної
біології та біотехнології
біологічного факультету
Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна
д.б.н., проф.



Анатолій БОЖКОВ

*Підпис Божков А. Ю. звіткою
Вчений секретар Ін-ту біології*