

## ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук Антипова С.С. на диссертацию Скамровой Галины Борисовны «Комбинированное действие слабого микроволнового излучения и ДНК-связывающихся препаратов на клетки буккального эпителия человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Диссертационная работа Скамровой Галины Борисовны посвящена комплексному исследованию изменения электрокинетических свойств ядер и состояния хроматина, а также проницаемости мембран клеток буккального эпителия человека, которые подвергались комбинированному действию слабого микроволнового излучения и биологически активных соединений. Изучение данного направления вызывает интерес в связи с перспективой использования электромагнитного излучения в медицинской практике. Впервые на непролиферирующих клетках буккального эпителия был обнаружен синергетический протекторный эффект при совместном действии микроволнового электромагнитного излучения с ДНК-связывающимися препаратами, а также комбинированном действии ароматических биологически активных веществ. Обнаруженное протекторное действие заключалось в снижении эффектов, вызванных электромагнитным излучением и препаратами по отдельности. Наблюдаемый эффект при комбинированном действии препаратов на клетки был проанализирован с точки зрения теории интерцепторно-протекторного действия. Результаты, представленные в диссертационной работе, позволяют говорить о том, что проведенное соискателем исследование обладает не только актуальностью и научной новизной.

Диссертационная работа Скамровой Г.Б. изложена на 203 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, выводов, списка использованных источников (287 источников) и приложений. Иллюстрационный материал включает 44 рисунка и 9 таблиц в основном тексте, а также 1 рисунок и 16 таблиц в приложении.

Автором подготовлен разносторонний литературный обзор состояния научных исследований в данной области на сегодняшний день. Описаны результаты исследований действия нетеплового, низкоинтенсивного

электромагнитного излучения на клеточном и молекулярном уровне и некоторые механизмы возникновения данных эффектов. Также в обзоре литературы уделено внимание как теоретическим моделям биологического действия ароматических биологически активных соединений на ДНК, так и экспериментальным данным в этой области. Однако на сегодняшний день в научной среде нет единого мнения о механизмах, лежащих в основе рецепции низкоинтенсивного ЭМИ биологическими объектами.

Цели и задачи исследования в диссертационной работе сформулированы корректно. Для достижения цели работы, был сформулирован ряд задач:

- разработка устройства для исследования электрокинетических свойств ядер методом микроэлектрофореза;
- исследование изменения состояния хроматина и клеточной мембраны под действием слабого микроволнового излучения с различными характеристиками;
- исследование изменения состояния хроматина, клеточных ядер и мембран под действием ароматических биологически активных соединений по отдельности и в комбинациях;
- изучение изменения состояния хроматина и клеточных ядер при комбинированном действии электромагнитного излучения и ароматических препаратов, а также обсуждение возможных молекулярных механизмов наблюдаемых в экспериментах явлений.

Для решения поставленных задач применялись адекватные методы исследования, описание которых изложены во второй главе диссертационной работы.

Исследование индивидуального действия низкоинтенсивного ЭМИ позволило установить характер реакции клеток на излучения с различными характеристиками: частотой, мощностью и экспозицией. Также отдельно были рассмотрены электрическая и магнитная составляющие. Наблюдаемый эффект заключался в конденсации хроматина и увеличению проницаемости клеточных мембран, а клеточный отклик проявлял зависимость от времени и мощности излучения.

Введение ароматических ДНК-интеркаляторов доксорубина, профлавина и бромистого этидия в клетки приводило к конденсации хроматина и снижению

электроотрицательности клеточных ядер в зависимости от концентрации препаратов и времени экспозиции. А присутствие кофеина и  $C_{60}$  фуллерена не привело к видимым изменениям состояния хроматина и клеточных ядер.

Воздействие ЭМИ совместно с исследуемыми препаратами на клетки буккального эпителия выразилось в формировании протекторного эффекта, а именно в снижение клеточного отклика вызванного излучением и исследуемыми веществами по отдельности. Схожий эффект был продемонстрирован и при действии на клетки микроволнового излучения совместно с кофеином и фуллереном.

При комбинированном действии ДНК-связывающихся препаратов с кофеином или  $C_{60}$  фуллереном на буккальный эпителий был также выявлен протекторный эффект с явной зависимостью от концентрации кофеина и фуллерена. На основании экспериментальных данных автором была показана возможность применения теории интерцепторно-протекторного действия для описания наблюдаемых эффектов.

В целом, работа производит хорошее впечатление, автором проведено серьезное исследование проблемы и грамотно разработаны методики. Все утверждения подтверждены ссылками на литературные источники. Результаты экспериментов соответствуют излагаемой теории. Это дает основание считать полученные результаты достаточно обоснованными и достоверными.

Из недостатков работы можно отметить следующие.

1. В Главе 1, на странице 20, в разделе «Влияние электромагнитного излучения на экспрессию генов» приводятся результаты D. de Pomerai et all, 2000 для водного раствора альбумина, а также авторами А.В. Сопы et all, 2006, для водного раствора зеленого флуоресцирующего белка - не понятно как связаны эти данные с обозначенной темой раздела;
2. Также в Главе 1 не представлена информация о существующих на сегодняшний день теоретических моделях рецепции ЭМИ и ЭМП, хотя роль кальция автором обсуждается;
3. В Главе 2 «Материалы и методы» не достаточно подробно описаны условия облучения экспериментальных образцов, а именно, автор говорит о том, что

образцы клеток фасовались в пробирки типа Эпендоф объемом 0,5 мл, при этом не указано, это объем образца или объем пробирки;

4. В этом же разделе не очевидна возможность проникновения квантов используемого излучения через пластик пробирки, а также отсутствует информация о глубине проникновения такого типа излучений в жидкость, так же не ясно, осуществлялось ли перемешивание раствора, для равномерного действия ЭМИ;
5. В Главе 2 при описании методики работы с бактериями *P. leiognathi* автор не указывает условий роста и составы сред, на которых культивировались бактерии;
6. В разделе 2.7.2. «Характеризация раствора C<sub>60</sub> фуллерена» автор ссылаются на рекомендации по приготовлению растворов фуллерена такого типа, однако при описании собственных манипуляций не указывают тип использованного ими фильтра для очистки раствора от не растворившихся частиц фуллерена, а также не приводят доказательств того, что полученная ими концентрация соответствует заявленной ими;
7. Рисунок 2.12. «АСМ изображение структуры C<sub>60</sub> фуллеренов в водном растворе при концентрации 0.1 мг/мл» - отсутствуют подписи или какие либо обозначения позволяющие отличить кластеры от отдельных молекул фуллеренов. Помимо этого отсутствует шкала, или какие либо данные о высоте объектов наблюдаемых с помощью атомно-силового микроскопа, а также информация о чистоте препарата наносимого на подложку;
8. Желательно расширить выборку доноров клеток, а также более детально подойти к обоснованию формирования групп доноров клеток для исследований;
9. На рис. 5.7-5.9 следует привести данные статистического анализа, чтобы продемонстрировать соответствие экспериментальных и теоретических данных.

Тем не менее, указанные недостатки не снижают ценности полученных результатов.

Представленная к защите диссертационная работа Скамровой Г.Б. «Комбинированное действие слабого микроволнового излучения и ДНК-

связывающихся препаратов на клетки буккального эпителия человека», выполненная под руководством д.ф.-м.н., профессора Евстигнеева Максима Павловича, представляет собой самостоятельный и целостный научный труд. Диссертация написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. Выводы соответствуют полученным результатам, автореферат отражает основные положения диссертации.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Скамрова Галина Борисовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Старший научный сотрудник  
ФГБОУ ВПО «Пушкинский  
государственный  
естественнонаучный институт»,  
кандидат биологических наук  
e-mail: [ss.antipov@gmail.com](mailto:ss.antipov@gmail.com)  
тел.: +7(909)983-82-01  
Московская область, Серпуховской  
район, г. Пушкино, микрорайон «В»,  
д.35, кв. 167

Антипов Сергей Сергеевич

« 9 » февраля 2014 г.

Подпись С.С. Антипова заверяю:



Удостоверенный секретарь Галина Скамрова Г.Б.