

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вильдановой М.С.

РЕАКЦИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА НА ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОРМОНОВ,

представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности:

03.03.04

Клеточная биология, цитология, гистология

Биологически активные вещества растительного происхождения и в том числе фитогормоны привлекают все большее внимание исследователей, как самостоятельные лекарственные препараты. Однако, последствия их использования, безопасные концентрации и побочные эффекты до конца не исследованы. Кроме того, применение фитогормонов в агропромышленности увеличивает их концентрацию в пище, вызывая аллергические реакции и другие негативные последствия. Исследования, касающиеся влияния фитогормонов на клетки животных и человека на сегодняшний день немногочисленны. Не до конца изучены мишени и механизмы действия фитогормонов, хотя известно, что экстракты растений исторически широко применялись для лечения большинства заболеваний, включая онкологические.

Диссертационная работа Вильдановой М.С. посвящена исследованию влияния фитогормонов трех разных типов на нормальные и опухолевые эпителиальные клетки человека. Жасмоновая кислота (семейство жасмонатов) и абсцизовая кислота (абсцизины), являются гормонами стресса, выделяющимися в ответ на повреждение. Гиббереллиновая кислота относится к семейству гиббереллинов и является стимулятором роста растений. В диссертационной работе автор использовал широкий набор современных методов исследования, трансмиссионную электронную микроскопию, разные методы оценки состояния синтетической и секреторной систем, морфометрический анализ и статистическую обработку полученных результатов. Это позволило автору впервые обнаружить изменения функционального состояния аппарата Гольджи под действием фитогормонов, повышение уровня общего белкового синтеза и изменение состояния везикул кислого компартмента.

Одним из достоинств работы является тот факт, что исследования проведены на двух линиях клеток человека — иммortalизованных кератиноцитах HaCaT и эпидермоидной карциномы A431. Т.е. механизм действия трех исследованных фитогормонов автор оценивал как на нормальных, так и на опухолевых клетках эпителиального происхождения. Такой подход позволяет проследить механизмы, которые могут быть одновременно задействованы в

нормальных и опухолевых тканях человека при разработке лекарственных средств на основе фитогормонов.

Особый интерес для дальнейших исследований может представлять обнаруженная в работе разница в реакции опухолевых клеток A431 на воздействие фитогормонов, а именно – увеличение синтеза инволюкрина по сравнению с нормальными нетрансформированными клетками человека.

К сожалению, при описании характера окраски на инволюкрин в автореферате автор не отмечает, что после действия гормонов характер окраски принципиально отличается от контрольной, что может свидетельствовать о запуске дифференцировки опухолевых клеток, хотя в выводах и в тексте диссертации эти результаты отражены. Автор также не делает акцента на отсутствии изменений уровня инволюкрина при действии фитогормонов для нетрансформированных клеток. Это может быть очень важным для оценки разницы в механизмах действия фитогормонов на опухолевые клетки по сравнению с нетрансформированными и может быть ключевым для разработки противоопухолевых препаратов

Из текста автореферата не ясно как длительное воздействие субтоксических концентраций фитогормонов может влиять на жизнеспособность клеток.

В разделе «Результаты и обсуждение» не хватает сопоставления полученных результатов с данными других исследователей.

Автореферат диссертации написан ясно, полно отражает полученные в работе экспериментальные данные, содержит логичные и корректные заключения при их обсуждении. Приведенные в автореферате иллюстрации хорошего качества. Достоверность результатов исследования не вызывает сомнения. Замечаний по сути работы и ее оформлению нет.

Диссертационная работа Вильдановой М.С. “РЕАКЦИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА НА ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОРМОНОВ”, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сама М.С. Вильданова заслуживает присуждения искомой степени.

Старший научный сотрудник
НИИ Генных и клеточных технологий
Факультета Фундаментальной Медицины
МГУ имени Ломоносова, кандидат биологических наук

Сысоева В.Ю.

ЗАВЕРЯЮ: *Сысоева В.Ю.*
СПЕЦИАЛИСТ ПО КАДРАМ *В.Е.Ю. Яковлева*
Для документов *28.09.16*



Сведения об авторе отзыва на автореферат Вильдановой М. С.

ФИО автора полностью: Сысоева Вероника Юрьевна

Степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности: кандидат биологических наук, 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология

Место работы, занимаемая должность: МГУ имени М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биохимии и молекулярной медицины, Лаборатория постгеномных технологий в медицине, старший научный сотрудник

Почтовый адрес: Россия, Москва, 119192, Ломоносовский пр-т., дом 31, корп. 5

Телефон: (495) 932-8814

Адрес электронной почты: veroniks@mail.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Вильдановой Марии Сергеевны на тему «РЕАКЦИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА НА ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОРМОНОВ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология».

Диссертационная работа Вильдановой М. С., автореферат которой представлен на отзыв, посвящена исследованию влияния на секреторно-синтетическую систему культивируемых клеток человека (нормальных иммортализованных кератиноцитов HaCaT и эпидермоидной карциномы A431) трех отличающихся по направленности действия на растения фитогормонов. Растительные гормоны относятся к биологически активным веществам, поэтому интересным и важным является вопрос о проявлении их активности по отношению к клеткам других организмов, в первую очередь, человека. С этой точки зрения, работа имеет большое теоретическое и практическое значение. Работа Вильдановой М. С. является обобщением экспериментальных работ автора по исследованию воздействия различных растительных гормонов на нормальные иммортализованные и опухолевые кератиноциты в культуре. Актуальность данного исследования определяется тем, что фитогормоны входят в состав многих лекарственных препаратов или являются самостоятельными лекарственными препаратами, но их действие на клетки млекопитающих изучено недостаточно. Очень важным и перспективным является изучение данных веществ с точки зрения их потенциального использования в качестве противоопухолевых препаратов. Исследование многих противоопухолевых веществ начиналось с исследования природных соединений, что в дальнейшем давало возможность синтезировать вещества сходного действия или повышенной активности. В работе впервые показано, компоненты синтетической и секреторной системы нормальных и опухолевых клеток эпидермоидного происхождения являются общей мишенью для действия трех растительных гормонов. Автор продемонстрировал, что морфологически сходный характер ответа клеток на фитогормоны, выражающийся в гипертрофии аппарата Гольджи, имеет разную функциональную основу. Автором впервые показано, что в ответ на действие фитогормонов происходит изменение состояния везикул кислого компартмента, одним из проявлений которого является увеличение продукции аутофагосом и аутофагических вакуолей. В работе установлено, что некоторые растительные

гормоны могут повышать уровень белкового синтеза в нормальных и опухолевых клетках, а также усиливать экспрессию маркера дифференцировки кератиноцитов инволюкрина в опухолевых клетках.

Автореферат диссертации содержит рисунки хорошего качества, позволяющие в полной мере оценить уровень полученных результатов. Теоретические заключения, полученные автором и опубликованные в ведущих российских научных изданиях, вносят существенный вклад в фундаментальные исследования в данной области клеточной биологии, а также имеют научно-практическую значимость для исследований в области медицинской фармакологии.

Автореферат полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, и Вильданова М.С. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

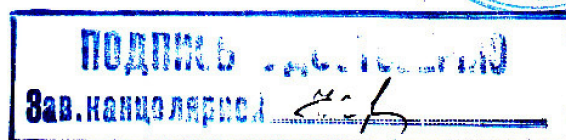
Доктор биологических наук,
старший научный сотрудник
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ

Дугина

Дугина В. Б.

Контактная информация: 119992, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 40,
Научно-исследовательский институт физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»;
vdugina@iname.com

8 (495) 9395550



30 «09» сентября 2016 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вильдановой Марии Сергеевны на тему: «Реакция культивируемых нормальных и опухолевых клеток кожи человека на действие растительных гормонов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертационное исследование М.С. Вильдановой посвящено фундаментальной биологической проблеме – влиянию фитогормонов, природных низкомолекулярных агентов, вырабатываемых растениями, на клетки человека. Несмотря на многочисленные данные, демонстрирующие, что фитогормоны не являются нейтральными по отношению к клеткам животного происхождения, объективные критерии оценки этого влияния до сих пор отсутствуют. В связи с этим, исследование с использованием одинаковых концентраций нескольких различающихся по структуре и функциям фитогормонов представляется весьма важным. Для решения сформулированных задач работы применялись как классические, так и современные методы цитологического анализа: культивирование клеток, МТТ-тест, иммуноцитохимическое и цитохимическое выявление клеточных органелл, морфометрический анализ, флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, электронная микроскопия, метод Click-iT для оценки уровня общего белкового синтеза, электрофоретическое разделение белков в полиакриламидном геле, иммуноблоттинг.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые для трех различных фитогормонов жасмоновой, абсцизовой и гиббереллиновой кислот обнаружены общие клеточные мишени в нормальных и опухолевых кератиноцитах человека – компоненты синтетической и секреторной системы. Полученные данные являются новыми и вносят существенный вклад в развитие данной области биологии. С помощью флуоресцентной и электронной микроскопии убедительно показано, что морфологически сходный характер ответа клеток на фитогормоны, выражающийся в гипертрофии аппарата Гольджи, имеет разную функциональную основу. Установлено, что некоторые растительные гормоны могут повышать уровень белкового синтеза в нормальных и опухолевых клетках, а некоторые – только в опухолевых. Получены данные об усилении экспрессии маркера дифференцировки кератиноцитов инволюкрина под действием растительных гормонов в опухолевых клетках. Впервые показано, что в ответ на действие фитогормонов происходит изменение состояния везикул кислого компартмента, одним из проявлений которого является увеличение продукции аутофагосом и аутофагических вакуолей, что также является одним из ранних признаков дифференцировки кератиноцитов.

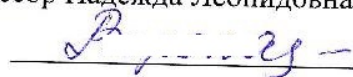
Теоретическая и практическая ценность работы заключается в получении новых фундаментальных данных о процессах, вызываемых растительными гормонами в клетках человека. Результаты работы могут быть использованы в дальнейших исследованиях, направленных на изучение влияния растительных гормонов на клетки животных, включая разработку подходов к противоопухолевой терапии, связанных с дифференцировкой опухолей эпидермоидного происхождения.

Автором продемонстрировано владение широким арсеналом методов исследования в области клеточной биологии. Текст автореферата сопровождается наглядными иллюстрациями высокого качества. Результаты данной работы представлены на международной и российских конференциях и опубликованы в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК.

Заключение

По актуальности, новизне, методическому уровню, объему и научно-практической значимости диссертационная работа Марии Сергеевны Вильдановой «Реакция культивируемых нормальных и опухолевых клеток кожи человека на действие растительных гормонов» полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, которые изложены в действующем «Положении о присуждении ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства РФ, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» Федерального агентства научных организаций в России, доктор химических наук, профессор Надежда Леонидовна Воропаева



Надежда Леонидовна Воропаева

Адрес: 398037, г. Липецк, Боевой проезд, 26, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» ФАНО России, доктор химических наук Воропаева НЛ

Тел.: раб. +7(4742)34-63-61, сот. 89158547467

e-mail: vnirapsa@mail.ru; bionanotex_1@mail.ru

Заведующий лабораторией Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» Федерального

агентства научных организаций в России, кандидат биологических наук
Анатолий Анатольевич Муравлев

_____ Анатолий Анатольевич Муравлев
Адрес: 398037, г. Липецк, Боевой проезд, 26, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» ФАНО России, кандидат биологических наук
Муравлев А.А.

Тел.: раб. +7(4742)34-63-61, сот. 89158547467

e-mail: vniiapsa@mail.ru; bionanotex_1@mail.ru

Подпись главного научного сотрудника ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» ФАНО России, доктора химических наук Воропаевой Надежды Леонидовны «удостоверяю»:

Ученый секретарь Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса»

Федерального агентства научных
организаций в России _____

 В.Г.Карпачева

Подпись заведующего лабораторией Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» Федерального агентства научных организаций в России, кандидата биологических наук Анатолия Анатольевича Муравлева «удостоверяю»:

Ученый секретарь Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса»

Федерального агентства научных
организаций в России _____

 В.Г.Карпачева

15.09.2016 г.

Адрес: 398037, г. Липецк, Боевой проезд, 26, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса» ФАНО России, доктор химических наук, профессор Воропаева Надежда Леонидовна

Тел.: раб. +7(4742)34-63-61, сот. 89158547467

e-mail: vniiapsa@mail.ru; bionanotex_1@mail.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вильдановой Марии Сергеевны
«Реакция культивируемых нормальных и опухолевых клеток кожи человека
на действие растительных гормонов»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация Вильдановой М.С. посвящена исследованию влияния трёх различных фитогормонов – жасмоновой, абсцизовой и гибберелиновой кислот – на эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи культивируемых клеток человека. Интерес к растительным гормонам и их влиянию на клетки животных остаётся неизменно высоким с сороковых годов прошлого века, когда была описана так называемая «клеверная болезнь» у овец и других пастбищных животных в Австралии. Тема данного исследования представляется в высшей степени актуальной, поскольку несмотря на широкое применение фитогормонов в современной медицине при так называемой гормональной заместительной терапии, объективных критериев оценки их влияния на клетки животных до сих пор нет.

Вильданова М.С. проделала большой объем экспериментальной работы с использованием как классических, так и современных методов исследования клеточной и молекулярной биологии. В ходе работы автором впервые был получен ряд интересных результатов; в частности, было показано, что гипертрофия аппарата Гольджи в ответ на воздействие фитогормонами имеет разную функциональную основу; что ряд фитогормонов повышает уровень белкового синтеза и усиливает экспрессию инволюкрина в опухолевых клетках. Также впервые было показано, что под действием фитогормонов увеличивается продукция аутофагосом и аутофагических вакуолей. В целом, можно говорить о том, что в результате выполнения данной работы была получена новая информация о процессах, вызываемых растительными гормонами в нормальных и опухолевых клетках человека. Таким образом, результаты исследования имеют не только фундаментальное, но и практическое значение с биомедицинской точки зрения.

Материалы работы были представлены на 4 всероссийских и 1 международной конференции; кроме того, по результатам работы опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах, в трёх из которых Вильданова М.С. стоит первой в списке авторов.

Полученные автором результаты не вызывают сомнений: чёткие формулировки цели и задач исследования и тщательная постановка экспериментов позволили получить новые и достоверные научные результаты. Хороший литературный стиль написания автореферата и

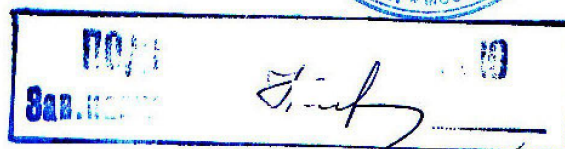
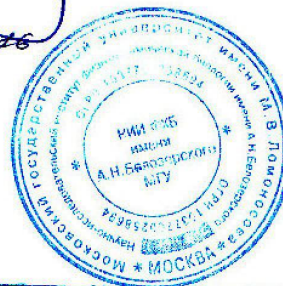
качественные наглядные иллюстрации делают понятным описание большого объема экспериментальной работы, проведенной Вильдановой М.С.

Автореферат полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, и Вильданова М.С. заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Д.б.н., с.н.с. НИИ ФХБ МГУ

Бураков А.В.

29.09.16



Сведения об авторе отзыва на автореферат Вильдановой М. С.

ФИО автора полностью: Бураков Антон Владимирович

Степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности: доктор биологических наук, 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология

Место работы, занимаемая должность: МГУ имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Отдел функциональной биохимии биополимеров, Лаборатория структуры и функции цитоскелета, старший научный сотрудник

Почтовый адрес: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40

Телефон: +7 (095) 939-0338, +7 (495) 939-53-59

Адрес электронной почты: antburakov@yandex.ru