

## Відзив

на дисертаційну роботу **Авдєєва Станіслава Сергійовича**  
**«МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ДІЇ ЦИТОТОКСИЧНИХ**  
**АГЕНТІВ ТА ЇХНІЙ КОМБІНАЦІЙ НА КЛІТИНИ ГЛІОМ»**, представленої  
до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук  
за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Робота Авдєєва С.С. присвячена розробці нових підходів до хіміотерапії гліомних клітин в експерименті *in vitro*. Гліобластома є найбільш злоякісною формою гліальних пухлин. Хірургічне видалення цієї пухлини з наступною променевою терапією та хіміотерапією алкілуєчим чинником темозоломідом має суттєві недоліки, зумовлені інфільтративним характером розвитку пухлини. Крім того, як і багато інших протипухлинних препаратів, темозоломід викликає ряд негативних побічних ефектів, зокрема когнітивну дисфункцію. Оскільки у більшості пацієнтів із гліобластомами виникають рецидиви пухлин, середня тривалість життя після виявлення пухлини не перевищує 1-2 роки. Наведені факти свідчать про те, що розробка нових підходів у лікуванні гліобластом є **актуальною проблемою** в онкології.

**Дисертаційна робота тісно пов'язана з програмами, планами, темами** наукових досліджень відділу біосинтезу нуклеїнових кислот Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Варто відзначити, що дисертант був співвиконавцем 7-ми науково-дослідних тем відділу.

Головним аспектом **наукової новизни** дисертаційної роботи, безумовно, є виявлення синергізму в цитотоксичній дії алкілувального чинника темозоломїду та антагоністів брадикініну на клітини гліом людини. Цікавими є дані щодо цитотоксичної дії екзогенно доданого білка CN13L2, отриманого як у прокаріотичній так і в еукаріотичній системах експресії. Цей білок пригнічував функціонування клітин різного типу і, що важливо, клітин гліомного походження. Його дія призводить до зупинки клітинного циклу у фазі G1 внаслідок зменшення кількості цикліну D, зростанням вмісту білків p53 та p21,

а також зниженням рівня фосфорилування білка pRb. Ці результати є особливо цікавими в світлі даних про стимулювання росту пухлинних клітин спорідненим білком CH3L1, але чіткої відповіді на питання про можливу взаємодію цих 2-х білків - CH3L1 і CH3L2 - у дисертаційній роботі не одержано.

**Практичне значення одержаних результатів**, у першу чергу, полягає у досягненні можливості зменшити у декілька разів кількість дозу темозоломід у під час комбінованого лікування пацієнтів цим препаратом у поєднанні з антагоністами брадикініну. Це дозволяє знизити токсичний вплив цього препарату, а також вартість хіміотерапії, оскільки темозоломід належить до дуже дорогих лікарських препаратів. Разом з тим, 2-гу тезу практичного значення дисертаційної роботи «Отримані дані щодо антимиогенних властивостей CH3L2 дають змогу розглядати цей білок як потенційний додатковий фактор пригнічення життєздатності клітин гліоми» можна розглядати лише гіпотетично, бо білки, як протипухлинні препарати, є малоперспективними.

У роботі чітко сформульовано мету і 6 головних завдань дослідження.

**Особистий внесок здобувача** у виконання дисертаційної роботи не викликає сумніву, оскільки у більшості робіт, опублікованих за темою роботи спільно з іншими дослідниками, прізвище здобувача стоїть першим номером у списку співавторів.

За темою дисертації **опубліковано 5 наукових статей**, серед яких 4 статті опубліковано в міжнародних журналах. Результати роботи також добре представлені на міжнародних наукових конференціях.

**Матеріали і методи дослідження** - сучасні, різноманітні й адекватні поставленим у роботі завданням дослідження.

Разом із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи Авдєєва С.С., до неї можна висловити **ряд зауважень і запитань**, більшість з яких має редакційний характер.

1. Фактично, скринінг дії 4-тіазолідинонів у роботі виявився зайвим (це - своєрідний «фішінг»-експеримент) і в результаті він нічого суттєвого не додав до новизни роботи. Очевидно, отриманим при цьому результатам дослідження можна було присвятити менше місця в тексті дисертаційної роботи.

2. На стор. 71 та в «Обговоренні результатів» автор роботи висловлює припущення, що «білок CH3L2 здатен нівелювати проліферативний сигнал CH3L1». Вважаю, що цей аспект роботи досліджений недостатньо, між тим він становить значний науковий інтерес. Висловлений вище висновок чітко не витікає з результатів, представлених на Рис. 3.21 (у порівнянні з даними, представленими на Рис. 3.20).

3. На стор. 73 дисертації написано, що білок CH3L2 володіє цитотоксичною дією на пухлинні клітини і разом з тим він надекспресується у злоякісних гліобlastомах. Питання – яким є природний механізм нейтралізації дії даного білка в пухлинних клітинах? Навіщо пухлині надекспресувати цей білок, якщо він пригнічує її розвиток? На думку опонента, у майбутніх дослідження доцільно вивчити вплив білка CH3L2 на функції клітин імунної системи. Відомо, що пухлинні клітини часто надекспресують ТФР-бета 1, який є потужним інгібітором росту та індуктором апоптозу пухлинних клітин епітеліального походження. Захищаючись від дії цього інгібітора, пухлинні клітини мають порушений сигнальний шлях ТФР-бета (дефектні чи відсутні специфічні рецептори ТФР-бета, або порушений сигнальний шлях за участю регуляторних білків Smad). Тому біологічна доцільність надпродукції ТФР-бета пухлинними клітинами полягає в його потужній імуносупресорній дії, що захищає пухлинні клітини від негативного впливу ТФР-бета 1.

4. Залишається не зрозумілим, як саме діє білок CH3L2 на клітини-мішені. Чи існують його специфічні рецептори на поверхні клітин і якими можуть бути їхні властивості?

5. На стор. 27 стверджується про специфічність білка CH3L2 як маркера гліобlastом. Чому ж тоді він детектувався лише в 5 з 11 (менше 50%) зразків цієї пухлини?

6. На стор. 42 стверджується, що сполуки ID28 і ID4523 були іммобілізовані по полімерному носії ВЕП-ГМА-ПЕГ за допомогою «електростатичних взаємодій». Як це можна зробити, коли вказані сполуки не мають заряду?

7. На стор. 33 в Табл. 2.1 показано досить великі розміри ПЛР-продукту – майже 1200 п.н. Що це – особливості даного гена чи вдало підібрані умови ПЛР?

8. Який сенс зведення даних щодо дії антагоністів брадикініну і похідних 4-тіазолідинонів в одну таблицю 3.1 на стор. 54, якщо більшість показників щодо дії 4-тіазолідинонів не визначалася.

9. На стор. 65 наведені дані щодо супресивного впливу білка SH3L2 на життєздатність клітин. Разом з тим відомо, що його аналог SH3L1 стимулює ріст клітин. Однак цього із відповідного рисунку не видно, бо тут наведені лише дані щодо життєздатності клітин із надпродукцією SH3L1, але нема даних щодо контролю – дії на клітини без такої надпродукції.

10. Чи правомірно відносити «гени-супресори пухлин» до класу «пухлино-асоційованих генів»? (стор. 23). Адже відомо, що вони функціонують у більшості нормальних клітин.

11. Чи може список «пухлино-асоційованих генів» нараховувати більше, ніж 3000 генів (стор. 23). Можливо, сюди було також зараховано гени, змінена експресія яких є «вторинним», а не «первинним» наслідком пухлинного росту. Доцільно уточнити, яким був критерій оцінки зміни рівня експресії для зарахування того чи іншого гена до когорти «пухлино-асоційованих генів».

12. Один із перших підрозділів дисертаційної роботи названо «цитотоксична хіміотерапія». Питання – чи існує «нецитотоксична хіміотерапія» щодо пухлинних клітин?

13. На стор. 41 (підрозділ 2.5.4) необхідно уточнити, які саме антитіла використовували для «аналізу фосфорилування білків pRb, цикліну D, p53 і p21» - однакові для всіх згаданих білків чи різні.

14. Суто редакційні зауваження до тексту і термінів дисертаційної роботи: «агенти» – краще «чинники», «комбінації» – краще «поєднання», «2-заміщені» – краще «заміщені у 2-му положенні», «протеолітична деградація» – краще «протеолітичне розщеплення», «глікопротеїд» (стор.24) – правильно «глікопротеїн», «в якості» – правильно «як», «приймає участь» – правильно «бере участь», «кроля» – правильно «кролика», «лідуюча сполука» – краще «найбільш ефективна сполука», «лейкемія» (стор. 65) – правильно «лейкоз» (за класифікацією професора Глузмана Д.Ф.).

Як видно, усі наведені зауваження мають редакційний, а не принциповий науковий характер і можуть бути легко виправлені під час роботи над текстом.

**Висновок.** На підставі викладеного вважаю, що за актуальністю теми, методичним рівнем проведених досліджень, науковим і науково-практичним значенням отриманих результатів, адекватністю зроблених висновків дисертаційна робота Авдеєва С.С. відповідає вимогам ДАК України до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 «молекулярна біологія».

Завідувач відділу  
регуляції проліферації клітин та апоптозу  
Інституту біології клітини НАН України,  
доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України



Стойка Р.С.

Львів, 4 вересня 2015 р.

Підпис члена-кореспондента НАН України Стойки Р.С. засвідчую:  
Вчений секретар Інституту біології клітини НАН України,  
к.б.н.



Барська М.Л.