

В І Д Г У К
офіційного опонента на дисертаційну роботу
Степаненка Олексія Анатолійовича

“Вплив терапевтичних хіміопрепаратів і стабільної трансфекції гена *CH3L1* на геном та фенотип пухлинних клітин”, представленої до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія

Дисертаційна робота Олексія Анатолійовича Степаненка присвячена вивченню наслідків впливу цитотоксичних і таргетних хіміопрепаратів, а також стабільної трансфекції гена *CH3L1*, асоційованого з ростом пухлин, на геном та фенотип пухлинних ліній клітин. Актуальність теми цієї дисертації обумовлена відсутністю ефективного лікування злоякісних пухлин і необхідністю пошуку принципово нових шляхів пригнічення їх росту. Відомо, що хіміотерапія може змінювати пухлини шляхом створення нових варіантів внаслідок посилення рівня хромосомної нестабільності та селекції генетичних варіантів. Збільшення хромосомних аберацій в результаті хіміотерапії асоціюється з підвищеною агресивністю пухлин і зростанням ризику розвитку терапевтично резистентних рецидивів. Таким чином, аналіз хромосомної нестабільності та фенотипу пухлинних клітин після довготривалої обробки клінічними цитотоксичними хіміопрепаратами першої лінії (темозоломід або цисплатин) або таргетними клінічними та перспективними хіміопрепаратами (інгібітор mTOR кінази темзиролімус і інгібітор MEK1/2 кіназ U0126) є дійсно важливим для розуміння нестабільності геному, гетерогенності та агресивності пухлинних клітин. Ступінь хромосомної нестабільності і генетичної гетерогенності корелює з прогресією захворювання від початкових стадій до появи злоякісних пухлин і метастазів, а також появою резистентності до хіміотерапії.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Робота відповідає основному плану фундаментальних досліджень, які проводились у відділі

біосинтезу нуклеїнових кислот ІМБГ НАН України і виконувались в рамках бюджетних тем (тепер лабораторія біосинтезу нуклеїнових кислот відділу функціональної геноміки).

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Робота ґрунтується на значному за обсягом експериментальному матеріалі, виконана на сучасному науковому та методичному рівні. Основний обсяг отриманих Олексієм Анатолійовичем результатів є новими, вони значною мірою поглиблюють уявлення про дестабілізацію геному і зміну фенотипових ознак різних ліній пухлинних клітин під впливом хімічних чинників.

Автором показано, що стабільна трансфекція рекомбінантної плазмідної ДНК зі вставкою кДНК гена CN3L1 збільшує рівень хромосомної нестабільності і впливає на фенотип клітин лінії НЕК293, причому CN3L1 суттєво підвищує життєздатність пухлинних клітин з високим рівнем хромосомної нестабільності.

Довготривала обробка пухлинних клітин клінічним цитотоксичним препаратом темозоломідом, таргетним препаратом темзиролімусом (інгібітор mTOR кінази) та експериментальним таргетним інгібітором MEK1/2 кінази U0126 призводить до суттєвих змін каріотипу та фенотипу пухлинних клітин, причому виявлено як збільшення, так і зменшення агресивності злоякісного фенотипу пухлинних клітин під дією темозоломїду, але цей ефект залежав від типу клітин. Всі положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, є науково обґрунтованими.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що хіміотерапевтичні препарати темозоломід та темзиролімус впливають на рівень хромосомної нестабільності і можуть як збільшувати, так і зменшувати агресивність злоякісного фенотипу пухлинних клітин, у зв'язку з чим застосування темозоломїду та темзиролімусу може мати і негативні наслідки на перебіг онкозахворювання. Більше того, отримані автором сублінії клітин

гліобластоми (C6, U251 та T98G), а також клітин іншого походження (НЕК293 та HeLa) з підвищеною резистентністю до клінічних хіміопрепаратів, можуть бути використані для вивчення крос-резистентності до інших лікарських препаратів або для тестування інших терапевтичних підходів.

Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.

Результати досліджень по темі дисертації знайшли відображення в 9 статтях, опублікованих у фахових наукових журналах, та в 10 тезах доповідей у збірниках матеріалів наукових з'їздів та конференцій.

Структура дисертації

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, експериментальної частини, аналізу та узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел. Дисертація написана на 129 сторінках і добре проілюстрована (має 34 рисунки). Автор опрацював 286 найменувань літератури по темі дисертації і в огляді літератури представив сучасний стан проблеми, якій він присвятив свою дисертаційну роботу. В розділі «матеріали і методи дослідження» – детально описані лінії використаних клітин і методичні підходи для вирішення поставлених у роботі завдань. Отримані автором результати досліджень описані детально і обговорені на достатньому рівні. Принципових зауважень до роботи не маю, хоча в роботі є не зовсім вдалі вислови та орфографічні помилки. Під час роботи над дисертацією Олексія Анатолійовича виникло декілька дискусійних питань на які хочу почути думку автора.

Окремі дискусійні питання до дисертації.

1. Чим обумовлений вибір ліній клітин НЕК293 та HeLa у якості моделей у досліджах по впливу стабільної трансфекції рекомбінантної плазмиди pcDNA3.1_ *CH3L1* на геном та фенотип і чому у трансфікованих сублініях цих клітин різний рівень хромосомної нестабільності?

2. Чому довготривала обробка різних пухлинних клітин темозоломідом по-різному впливає на їх фенотип?

3. Який механізм відбору аберантних хромосом у клітинах пухлин? Чи є специфічність накопичення певних хромосом у різних лініях пухлинних клітин і якщо є, то які механізми цього явища? Чи характерна хромосомна нестабільність для не пухлинних клітин? Яка роль стресу у розвитку хромосомної нестабільності?

4. Які можливі механізми генотоксичної дії таргетних препаратів темзіролімусу (інгібітор mTOR кінази) та U0126 (інгібітор MEK1/2 кінази)?

Разом з тим, усі поставлені питання не зменшують цінності роботи і її загальної позитивної оцінки.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Степаненка О.А. “Вплив терапевтичних хіміопрепаратів і стабільної трансфекції гена *CHI3L1* на геном та фенотип пухлинних клітин”, представляє собою завершену наукову працю, яка за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичним значенням результатів досліджень відповідає вимогам пп. 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор, Степаненко Олексій Анатолійович, заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Завідувач відділу молекулярної біології
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
доктор біологічних наук, професор

Мінченко - Мінченко О.Г.

