

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Жуваки Катерини Сергіївни "Дослідження нових нуклеозидних інгібіторів MGMT при алкілувальній хіміотерапії пухлинних клітин в модельних системах", представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Одним із важливих засобів лікування онкологічних захворювань є алкілувальна хіміотерапія за допомогою агентів, що здійснюють алкілування ДНК злоякісних клітин – пошкодження генетичного матеріалу, несумісного з життям таких клітин. Але в клітинах, у тому числі у злоякісних, працюють репараційні системи, здатні видаляти алкільні групи та відновлювати нормальний стан ДНК. Одним з елементів таких систем є фермент Об-метилгуанін-ДНК-метилтрансфераза (MGMT), яка відщеплює метильну групу від Об-метилгуаніну (ОбmG) в складі ДНК – висока активність цього ферменту, таким чином, суттєво знижує ефективність алкілувальної хіміотерапії. Отже, важливим для медицини завданням є пошук ефективних інгібіторів MGMT – сполук, що конкурують з ОбmG, приймаючи на себе активність ферменту, і, відповідно, підвищують ефективність алкілувальної хіміотерапії. Таким чином, актуальність роботи Катерини Жуваки, присвяченої характеристиці нових інгібіторів MGMT, не викликає сумніву.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках наукової тематики відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Загальні відомості про роботу. Дисертація містить 143 сторінки і складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу, де описуються матеріали і методи дослідження, двох основних розділів, присвячених отриманим результатам, заключного узагальнюючого розділу, висновків, списку використаної літератури (143 найменування) і одного додатку. Дисертацію проілюстровано 23 рисунками і 4 таблицями. Дисертаційна робота оформлена відповідно вимог наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 р. "Про затвердження вимог до оформлення дисертації".

Отримані авторкою результати, викладені у двох основних розділах, стосуються перевірки цитотоксичності низки нових інгібіторів MGMT, оцінки їхньої інгібувальної активності, вивчення впливу інгібіторів на пухлинні клітини з різним рівнем активності MGMT, визначення терапевтичного ефекту інгібіторів на створеній у роботі експериментальній моделі *in vivo*.

Наукова новизна, достовірність і обґрунтованість отриманих результатів. У роботі вперше детально досліджено нові нуклеозидні інгібітори MGMT та доведено їхню високу інгібувальну активність у пухлинних клітинах людини кількох різних типів. Продemonстровано вплив інгібіторів на підсилення аутофагії та підвищення летальності клітин лінії T98G. Вперше показано терапевтичний ефект нових інгібіторів на пухлини молочної залози модельних мишей, який проявляється у регресії пухлин та зниженні рівня MGMT. Вперше у пухлинних зразках продемонстровано ознаки апоптозу як механізму регресії пухлин при комбінованій терапії із застосуванням досліджених інгібіторів.

Використання сучасних експериментальних методів, ретельне виконання експериментів, застосування експериментальних технік, що доповнюють одна одну, узгодження отриманих результатів з існуючими експериментальними даними і висновками інших авторів, а також надійна попередня апробація отриманих результатів на сторінках фахових наукових журналів, дозволяють констатувати достовірність експериментальних результатів та обґрунтованість наукових висновків, які повністю цим результатам відповідають.

Дисертація є результатом самостійних досліджень здобувачки і не містить ознак фальсифікації, компіляції та запозичень, усі використані матеріали інших авторів мають належні посилання на відповідні джерела, що дозволяє констатувати відсутність порушень принципів академічної доброчесності.

Практичне значення дисертаційної роботи. На основі отриманих результатів у роботі відібрано три нові інгібітори MGMT, для яких продемонстровано високу інгібувальну активність, низьку цитотоксичність і терапевтичний ефект на моделях *in vivo*. Після відповідних клінічних випробувань ці нові інгібітори можуть бути використані при алкілувальній хіміотерапії пухлин з високим рівнем активності MGMT.

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи. Наукові положення і висновки дисертаційної роботи повністю викладено в опублікованих працях здобувачки, що налічують 8 публікацій. Серед них 5 тез доповідей на наукових конференціях та 3 статті у фахових наукових журналах, представлених у наукометричній базі Scopus. Публікації свідчать про надійну апробацію дисертації з боку експертної спільноти.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи:

1. Серед ключових слів фігурує "лікування", яке виглядає занадто неконкретним. Зайвим предствляється також слово "рак", оскільки нижче у переліку ключових слів представлена також "онкологія".

2. Рис. 3.3 виглядає зайвим, оскільки представлена на ньому крива використана в якості контролю на наступному рисунку.

3. У багатьох тестах (як наприклад на рис. 3.8) стандартний інгібітор O⁶-бензилгуанін виглядає більш ефективним у порівнянні з новими, при тому, що його цитотоксичність дещо нижча (рис. 3.1, 3.2). Виникає питання, у чому ж перевага нових досліджених у роботі інгібіторів? У тексті роботи є міркування з цього приводу, але хотілося більш чіткого обговорення цього питання.

4. Обговорюючи рис. 3.9, авторка зазначає, що алкілувальна сполука "MNNG значно підвищує рівень аутофагії у клітинах U251MG", хоча підвищення становить приблизно 10% і ніякої статистичної оцінки достовірності такого підвищення не наведено. З іншого боку, при обговоренні рис. 3.10 зазначається, що для тих самих клітин у присутності інгібіторів "рівень аутофагії зріс незначно", хоча ефекти явно більш суттєві, ніж на рис. 3.9.

5. Залишається не зовсім зрозумілим, які конкретно кількісні показники, що вони характеризують "рівень аутофагії" і "рівень летальності" представлені на рис. 3.9, 3.10, 3.12.

6. При обговоренні своїх результатів стосовно визначення рівня аутофагії та рівня летальності авторка підкреслює, що дані флуоресцентної спектрометрії і мікроскопії "загалом співпадають". Така констатація є зайвою, оскільки не співпадати вони не можуть у принципі: спектрометрія полягала у кількісному аналізі флуоресцентних мікроскопічних зображень. Відповідно, більш логічним було б спочатку навести зображення, а потім їх кількісний аналіз.

7. На рис. 4.1–4.3 медіана зазвичай не співпадає з середнім значенням, що означає відсутність нормального розподілу. Відповідно, наведені значення стандартних відхилень (як і середні значення) не мають сенсу.

8. У тексті дисертації зустрічаються граматичні помилки, не зовсім коректні терміни та стилістичні негаразди. Зокрема,

- "результати вносять вагомий внесок" (стор. 27);
- "... клітини обробляли потенційні інгібітори..." (стор. 61);
- "... була серія клітин оброблені лише..." (стор. 65);
- флуоресцентна мікроскопія скрізь позначається як "мікрофотографія";
- некоректним є також термін "флуоресцентна спектрофотометрія", який зустрічається у тексті дисертації;
- не зовсім зрозуміло, що мається на увазі під "культуральними методами" у першому висновку.

На мою думку, наведені зауваження не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Жуваки Катерини Сергіївни "Дослідження нових ненуклеозидних інгібіторів MGMT при алкілувальній хіміотерапії пухлинних клітин в модельних системах" виконана на високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності та є завершеним науковим дослідженням, сукупність теоретичних і практичних результатів якого розв'язує наукові проблеми, що мають істотне значення для галузі знань 09 Біологія. Дисертаційна робота за актуальністю, практичною цінністю та науковою новизною повністю відповідає вимогам чинного законодавства України, що передбачені в пп. 6–9 "Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. Авторка роботи, Жувака Катерина Сергіївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент,
доктор біологічних наук, професор
професор ННЦ "Інститут біології та медицини"
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка



Андрій СИВОЛОБ

19 листопада 2024 р.

