

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу **САМОЙЛЕНКО ОЛЕНИ АНАТОЛІЇВНИ**
“ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ МОДИФІКАЦІЇ
ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ОРНІТИНДЕКАРБОКСИЛАЗИ ПРИ
ПУХЛИННОМУ ПРОЦЕСІ ”

представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія

Актуальність теми дисертації.

Дисертаційна робота Самойленко Олени Анатоліївни присвячена вивченню молекулярно-біологічних механізмів модифікації функціонального стану орнітиндекарбоксилази при пухлинному процесі. Незважаючи на успіхи в лікуванні злоякісних новоутворень - формування персоналізованого підходу, таргетної терапії, імунотерапії тощо, багато проблем в лікуванні залишається.

Значною мірою початок і прогресування злоякісних новоутворень супроводжується перебудовою клітинного метаболізму, зокрема обміну поліамінів (ПА), який є критичним для забезпечення репарації ДНК, проліферації, диференціювання та виживання пухлинних клітин. Ключовим ферментом цього обміну є орнітиндекарбоксилаза (ОДК), яка каталізує утворення путресцину – першого поліаміну в каскаді біосинтезу ПА. Надмірна активність ОДК сприяє неконтрольованому поділу клітин, гальмуванню апоптозу, неоангіогенезу та резистентності до терапії. Враховуючи роль поліамінів в процесах пухлинного розвитку важливо оцінити дію різних інгібіторів ОДК, впливаючи на різні рівні можливої модифікації-транскрипційні, пострасляційні, сигнальні та епігенетичні.

Розуміння механізмів молекулярно-біологічної модифікації функціонального стану ОДК при пухлинному процесі дозволить ідентифікувати ключові ланки регуляції обміну ПА та створити теоретичне підґрунтя для визначення предикторів ефективності терапії інгібіторами ОДК, саме цій частині і присвячена дисертаційна робота Самойленко Олени Анатоліївни.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології

ім. Р.Є. Кавецького НАН України у відповідності з планами науково-дослідних робіт Інституту за темами: «Дослідження молекулярних механізмів протипухлинної дії природних поліфенолів, що пов'язані з їх впливом на метаболізм поліамінів» (2006-2008 рр., державний реєстраційний № 0105U005559), «Дослідити характер метилювання ДНК в пухлинних клітинах за умов блокування синтезу поліамінів» (2010-2012 рр., державний реєстраційний № 0109U007154), «Особливості метаболізму аргініну та поліамінів за умов впливу модуляторів їх обміну при пухлинному рості» (2013-2015 рр., державний реєстраційний № 0112U004715). Робота підтримана фондом УНТЦ – грант 4894 «Development of nanotechnology of nanoplant composites and investigation of their antitumor and antioxidant activities» (2011-2013 pp.).

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна проведених Самойленко Оленою наукових досліджень та одержаних нею результатів, а також основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій полягає у тому, що -

Вперше в результаті комплексного експериментального дослідження *in vivo* ідентифіковано ключові епігенетичні механізми модифікації функціонального стану ОДК у пухлинних клітинах за умов впливу синтетичних інгібіторів ензиму – нораргініну, α -диформетилорнітину (ДФМО), полігексаметиленгуанідину (ПМГ) та метилглюксаль-біс-гуанілідразон (МГБГ).

Вперше показано, що протипухлинна дія інгібіторів ОДК реалізується шляхом гіперметилювання генів *odc1*, *oaz1*, *azin1*, *smox*, *sat1*, *amd1*, що супроводжується зниженням активності ензиму та асоціюється з гальмуванням росту пухлин; зміни співвідношення сигнальних білків (p50, p65, c-Мус, p53, Bcl-xL), що модулюють транскрипційну активність *odc1*; активації РНКаз, як складової супресії трансляції ОДК.

Вперше виявлено, що поєднаний вплив інгібіторів ДФМО та нораргініну формує ефективну епігенетичну сигнатуру, яка забезпечує значне пригнічення експресії та активності ОДК і вагомий протипухлинний ефект порівняно із застосуванням інших досліджуваних сполук.

Вперше на основі результатів багатофакторного регресійного аналізу визначено гени, статус метилування яких є незалежним епігенетичним чинником, що у сукупності впливає на характер модифікації функціонального стану ОДК та перебіг пухлинного процесу за умов сумісного застосування ДФМО та нораргініну.

Ідентифіковано патерн універсальних (*odc1*, *smox*) та модель-специфічних (*oaz1*, *sat1*, *amd1*, *azin1*) генів, рівень метилування яких регулює активність та вміст ОДК за умов комбінованої дії інгібіторів ДФМО та нораргініну.

Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації

Матеріали дисертаційної роботи викладено згідно поставленої мети та завдань на основі обраних предмету та об'єкту досліджень. Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Самойленко Олени Анатоліївни витікають із отриманих нею експериментальних результатів і є добре обґрунтованими. Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів не викликає ніяких сумнівів, оскільки вони опрацьовані статистично - (t-критерій Стюдента, кореляційний аналіз та багатофакторний регресійний аналіз). За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, серед яких 8 статей (5 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, у тому числі 4 – у журналах, що індексуються у міжнародних наукометричних базах), 1 патент України на корисну модель та 8 тез у збірниках матеріалів наукових конференцій та з'їздів. Автореферат повністю відображає зміст дисертаційної роботи.

Практичне значення одержаних результатів.

Обґрунтовано доцільність використання комплексу синтетичних інгібіторів ОДК як ефективного засобу зниження активності ферменту, що супроводжується пригніченням пухлинного росту та зменшенням метастазування. Отримані результати можуть бути використані для розробки підходів до підвищення ефективності прогнозування перебігу онкологічних захворювань і вдосконалення терапевтичних підходів шляхом розробки мішень-орієнтованих стратегій лікування, спрямованих на ОДК як ключову молекулярну мішень обміну ПА.

Методи дослідження.

В роботі використані методи експериментальної онкології; біохімічні і спектрофотометричні методи – для визначення активності ОДК, методи гелелектрофорезу, Вестерн-блот аналіз та метод поверхневого плазмонного резонансу (ППР) – для оцінки рівнів білків, продуктів генів, залучених у процеси злоякісного росту; метод зимографії – для визначення активності РНКаз; метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі – для аналізу статусу метилювання CpG-острівців у промоторах генів *odc1*, *oaz1*, *azin1*, *smox*, *sat1*, *amd1*; методи статистики - t-критерій Стюдента, кореляційний аналіз та багатофакторний регресійний аналіз. Хочеться відзначити великий обсяг експериментальної роботи та різноманітність методичних підходів.

Обсяг та структура дисертації.

Дисертацію викладено українською мовою на 180 сторінках комп'ютерного набору. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», чотирьох розділів результатів власних досліджень, розділу «Узагальнення та обговорення результатів», висновків та списку використаних джерел, який налічує 205 посилання, з них 9 кирилицею. Роботу ілюстровано 37 рисунками та 17 таблицями.

У вступі викладено дані про актуальність роботи, мету дослідження, завдання, об'єкт та предмет дослідження, методи, наукову новизну, практичне значення результатів, дані про апробацію, публікації, структуру і обсяг роботи.

В огляді літератури детально проаналізовані сучасні дані по темі дисертації. Наведені дані щодо структури, біологічної функції, механізмах регуляції ОДК, ролі в пухлинних процесах та можливості на них впливати. Огляд добре ілюстрований, має таблиці та схеми. Він підсумовується коротким резюме, що дає основу для розуміння логіки експериментальної роботи.

Розділ 2. «Матеріал і методи дослідження» написаний ретельно, за стилем написання стає очевидним володіння дисертантом сучасними і складними методами, що використовувались у роботі. В роботі використано 4 експериментальні моделі (пухлини легень - (КЛЛ, W256) та лімфолейкози — (P 388, L1210). Всі дані про експерименти вдало представлені в таблиці. Наведено робочі протоколи використання інгібіторів ОДК та численні методи

молекулярно-біологічних та біохімічних досліджень, математична та статистична обробка результатів.

Результати експериментальної роботи представлені в розділах 3-6. Вивчено вплив синтетичних інгібіторів ОДК на стан ензиму в пухлинних клітинах, оцінено вміст білків, залучених до регуляції ОДК, статус метилювання генів після дії синтетичних інгібіторів ферменту, показана роль ключових епігенетичних чинників екзогенної регуляції орнітиндекарбоксилази у пухлинних клітинах.

Варто відмітити, що отримані Самойленко О.А. результати детально обговорені в розділі “АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ”.

Висновки роботи базуються на отриманих результатах і повністю відображають результати всіх основних досліджень.

Окремі дискусійні питання і зауваження.

Дисертаційна робота Самойленко Олени Анатоліївни містить всю необхідну для дисертації інформацію, написана і оформлена належним чином, добре вичитана та майже не містить помилок. Хіба що, уточнення - BCR-ABL це не онкоген вірусу лейкемії Абельсона мишей (стор. 19), а це аномальний онкоген, який є ключовим фактором у розвитку хронічного мієлоїдного лейкозу (ХМЛ) та деяких інших видів лейкемій.

Принципових недоліків у цій роботі не виявлено, дуже позитивно оцінюю дану роботу, але є декілька питань дискусійного характеру:

Запитання до Олени Анатоліївни.

- Ви показали, що об'єднане використання інгібіторів демонструє синергічну дію, збільшуючи протипухлинний ефект у кілька разів. Як це пояснюється? Чи збільшується потенційно токсичність такого поєднання?

- Як Ви вважаєте, цей ефект буде діяти і в інших нозологічних одиницях?

- Чи обумовлюють поліаміни, до певної міри, оксидативний статус клітини?

- Який рівень модифікації ОДК, на Вашу думку, був би перспективним при клінічному впровадженні, як би це виглядало?

Зазначені зауваження не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну високу позитивну оцінку.

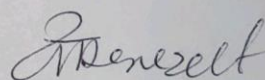
Висновок: дисертаційна робота Самойленко Олени Анатоліївни “Молекулярно-біологічні механізми модифікації функціонального стану орнітиндекарбоксилази при пухлинному процесі”

представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук є завершеною науковою працею, за своєю актуальністю,

науково-теоретичним рівнем, науковою новизною і практичним значенням повністю відповідає вимогам п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., (зі змінами внесеними згідно Постанови Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р. та №567 від 27.07.2016 р.), які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її авторка
САМОЙЛЕНКО ОЛЕНА АНАТОЛІЇВНА заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія

Офіційний опонент:

завідувач відділу молекулярної генетики
Інституту молекулярної біології і
генетики НАН України,
доктор біологічних наук, професор



Геннадій ТЕЛЕГЄВ



Підпис та
посвідчення
Геннадія Телегєва
зав. кабінетом
Решетовської В. В.