

**Відзив**  
**офіційного опонента на дисертаційну роботу**  
**Авдєєва Станіслава Сергійовича**

**«МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ДІЇ ЦИТОТОКСИЧНИХ**  
**АГЕНТІВ ТА ЇХНІХ КОМБІНАЦІЙ НА КЛІТИНИ ГЛІОМ»,**

представленої до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Дисертаційна робота Авдєєва С.С. присвячена вивченню механізмів дії різних комбінацій цитотоксичних агентів на клітини гліом *in vitro*. *Актуальність теми дисертації не викликає сумніву.* Як зазначає автор, терапія, спрямована на поодинокі мішені, не може бути ефективною внаслідок індукції обхідних шляхів виживання клітин пухлин. Отже, дизайн та скринінг раціональних комбінацій декількох агентів, спрямованих на різні молекулярні мішені пухлини, можуть мати позитивний терапевтичний ефект. Важливо, що нонапептид брадикінін, що залучений до регуляції багатьох процесів, зокрема судинного тонуусу, болю і запалення, має властивості фактора росту для деяких пухлин. Отже, антагоністи брадикініна є потенційними кандидатами на використання у якості протипухлинних агентів. Також показано, що додатковими факторами, які збільшують ефективність протипухлинної хіміотерапії, можуть бути білки з цитотоксичними властивостями. Виявлення і характеристика пухлино-асоційованих білків із цитотоксичними властивостями, а також створення схем їх комбінованого застосування із протипухлинними агентами є важливою задачею для впровадження нових підходів до терапії ракових захворювань людини.

Отже, створення нових підходів до мультитаргетної комплексної терапії, спрямованої на специфічні мішені пухлинних клітин, зумовлює необхідність проведення таких досліджень, яким присвячена дисертаційна робота Авдєєва С.С.

Метою роботи було проведення аналізу цитотоксичних властивостей антагоністів брадикініна, похідних 4-тіазолідинонів та їхніх комбінацій з

темозоломідом у культурі клітин гліоми людини, а також характеристика впливу білка CN3L2 на життєздатність клітин гліомного походження.

**Зв'язок з науковими програмами, планами, темами.** Робота відповідає основному плану фундаментальних досліджень, які проводяться у відділі біосинтезу нуклеїнових кислот ІМБГ НАНУ і виконувалась в рамках декількох бюджетних тем.

**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. Отримані дисертантом результати доповнюють і поглиблюють уявлення про шляхи впливу цитотоксичних агентів на гліомні клітини. Всі положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, є науково обґрунтованими.

Вперше виявлено цитотоксичні властивості антагоністів брадикініна та похідних 4-тіазолідинонів у культурі клітин гліоми людини.

Автором показано, що комбінація сполуки ВКМ-570 з темозоломідом суттєво посилює протипухлинний ефект даного терапевтичного препарату, що може бути використано для подальших доклінічних досліджень. Окрім того, комбінація 1 мкМ ВКМ-570 та 10 мкМ темозоломіда, що має значну цитотоксичну дію на клітини U251, не інгібує життєздатність первинних фібробластів миші.

Комбінація CN3L2 та ВКМ-570 призводила до двократного зростання цитотоксичного впливу на клітини U251 у порівнянні із застосуванням цих агентів поодиноці. Таким чином, білок CN3L2 сприяє цитотоксичній дії хіміотерапевтичних агентів, зокрема ВКМ-570, що дає можливість розглядати CN3L2 як потенційний компонент комбінованої хіміотерапії.

**Практичне значення одержаних результатів.**

Робота має велике практичне значення. Одержані дані щодо значної цитотоксичної активності антагоністів брадикініна та похідних 4-тіазолідинонів

у клітинах гліоми людини і щура, а також їх незначного впливу на життєздатність незлоякісних клітин, створюють підґрунтя для подальших доклінічних досліджень та впровадження цих сполук як протипухлинних препаратів. При комбінуванні з антагоністами брадикініна вдалося досягти суттєвого підвищення ефективності темозоломіда в концентраціях, значно менших за ті, що застосовуються в клініці. Це має зменшити у декілька разів кількість темозоломіду протягом лікування пацієнта, що дасть змогу знизити його токсичний вплив і вартість терапії. Отримані дані щодо антимітогенних властивостей CN3L2 дають змогу розглядати цей білок як потенційний додатковий фактор пригнічення життєздатності клітин гліоми. Моноклональні антитіла проти білка CN3L2 можуть бути використані для подальшого дослідження його синтезу та функціональних особливостей в різних типах клітин і тканин.

У роботі чітко сформульовано мету і завдання дослідження.

#### **Особистий внесок здобувача**

Викладені в дисертації результати було отримано здобувачем особисто або за безпосередньої участі здобувача.

#### **Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.**

За темою дисертації опубліковано 5 статей у фахових наукових журналах і 10 тез 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. Загальний обсяг дисертації – 111 сторінок машинописного тексту. Ілюстративний матеріал дисертації подано у вигляді 25 рисунків. Список використаної літератури охоплює 142 найменування.

Матеріали і методи дослідження – сучасні й адекватні завданням дослідження.

### **Окремі дискусійні питання і зауваження до дисертації.**

Опонент не має принципових зауважень до роботи, тому пропонує декілька запитань для дискусії:

1. Чим обумовлений вибір генетично-зміненої лінії клітин HeLa (HeLa\_СНІЗL1) у якості піддослідних клітин?

2. Чим можна пояснити високий кооперативний ефект у пригніченні клітинної проліферації комбінацією різних інгібіторів брадікініна, а саме ВКМ-570 і ВКМ-1800, адже теоретично вони мають одну мішень впливу?

3. Який передбачуваний механізм цитотоксичної дії досліджуваних 4-тіазолідинонів? Чи можна передбачати певні механізми, що наведені в огляді для інших 4-тіазолідинонів?

4. Чим можна пояснити, що подібні за дією препарати ВКМ-570 та ВКМ-1800 протилежно впливали на ефект темозоломіда в клітинах U251?

5. В роботі вивчали вплив комбінацій білка СНІЗL2, темозоломіда і ВКМ-570 на життєздатність клітин гліоми U251 як потенційну мультитаргетну терапію гліом. Проте, чи всі ці сполуки можуть однаково ефективно перетинати гематоенцефалічний бар'єр, щоб дістатися до клітин гліоми?

6. Враховуючи виявлені цитотоксичні властивості СНІЗL2 та надекспресію цього білка в гліобластомах, чи не перевіряв автор рівень ендогенної експресії цього білка в досліджуваних культурах клітин, в тому числі і в первинних фібробластах?

7. Чи не використовував автор при вивченні цитотоксичного впливу рекомбінантного білка СНІЗL2 на клітини у якості негативного контролю в тих самих концентраціях гомологічний рекомбінантний білок СНІЗL1, який, як відомо, не володіє цитотоксичними властивостями?

Однак, всі зазначені питання не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку. Проблема, яку досліджує автор дисертації, надзвичайно важлива, а одержані ним дані вносять вагомий вклад в

розуміння механізмів дії різних комбінацій цитотоксичних агентів на клітини гліом і мають важливе фундаментальне і практичне значення.

### Висновок.

Враховуючи все вищесказане, вважаю, що дисертаційна робота Авдєєва С.С. присвячена важливій науковій і практичній проблемі, представляє собою завершену наукову працю, що за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичним значенням результатів досліджень відповідає вимогам, які ставить ДАК України до кандидатських дисертацій, а її автор, Авдєєв Станіслав Сергійович заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Заступник директора з наукової роботи,  
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України,  
доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник

Колибо Д.В.



Підпис *Колибо Д.В.*  
ЗАСВІДЧУЮ  
Зав. канцелярією  
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна  
Національної академії наук України  
№ *14* 09 20 15 р.