

ОТЗЫВ

официального оппонента на работу Рак Александры Яковлевны «Получение и исследование биологических свойств рекомбинантного антимюллера гормона человека и его производных», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия

Рак яичника является распространенной онкологической патологией, диагностируется, как правило, на поздних стадиях заболевания и приводит, несмотря на лечение, к преждевременной смерти высокого процента пациентов. Поиск новых препаратов для его лечения и разработка технологий их получения являются актуальными и своевременными. Работа А.Я.Рак посвящена получению и исследованию свойств рекомбинантного антимюллера гормона (pAMГ) по отношению к клеткам рака яичника. Автор исходит из того факта, что многие клетки новообразования яичников несут на своей поверхности рецептор к АМГ, MISRII, что может обеспечить таргетную доставку препарата непосредственно к опухолевой ткани, и не затронуть нормальные клетки организма. В результате диссертационной работы были получены высокоочищенные гомогенные препараты прогормона, изучена стабильность pAMГ и его производных, получены панели моноклональных антител, как к самому гормону, так и его рецептору, изучена кинетика взаимодействия различных форм гормона с рекомбинантным аналогом MISRII.

Диссертация построена по традиционному принципу, работа изложена на 137 страницах, содержит 54 рисунка, 2 схемы и 11 таблиц. Список цитированной литературы содержит 177 ссылок. Во «Введении» Рак А.Я. описывает научную проблему, которой посвящена работа, обсуждает ее актуальность и степень разработанности, описывает цели и задачи исследования, использованные методы, оценивает степень новизны полученных результатов, их теоретическую и практическую значимость. Этот раздел также включает информацию об апробации результатов и о печатных работах, в которых они были опубликованы (список включает 10 статей, 9 из которых были опубликованы в рецензируемых научных журналах из списка ВАК, в том числе 2 статьи из списка были опубликованы в международных изданиях; результаты также были представлены на 6 научных конференциях, и подана заявка на патент).

Литературный обзор диссертации хорошо организован, из него логично вытекают задачи работы. Автор обсуждает структуру и функции АМГ, его экспрессию в процессе онтогенеза, сигнальные пути, которые приводят к индукции АМГ, приводит литературные данные, свидетельствующие в пользу того, что MISRII может служить маркером онкопатологий, в частности рака яичника, раскрывают механизмы взаимодействия MISRII и АМГ. Уделяется также внимание современным методам получения продуцентов для экспрессии АМГ и методам его выделения.

В целом, этот раздел написан хорошим литературным языком, читается с интересом, но вызывает некоторые вопросы. К примеру, во введении автор позиционирует АМГ как средство, вызывающее апоптоз в клетках рака яичника, однако, на рисунке 3 (стр. 18) представлена схема, где указаны сигнальные пути, активируемые АМГ при связи со своим рецептором. Один из этих путей идет через активацию транскрипционного комплекса NF-kB, который регулирует экспрессию большого числа генов, львиная доля которых способствует выживанию клетки, а не ее гибели. Два других описанных пути активируют экспрессию неких генов, функция которых не раскрывается в тексте, и не вполне понятно, как описанные сигнальные пути обеспечивают апоптоз клеток рака яичника?

Раздел «Материалы и методы» содержит обстоятельное описание проведенных экспериментов, достаточное для их воспроизведения. Особенное впечатление производит то, что автором были получены панели моноклональных антител к АМГ и MISRII, на основе которых удалось создать ряд тест-систем, работающих в формате 96-луночных плат. В работе использованы современные методы и их комбинация в одной работе производит хорошее впечатление.

В главе «Результаты работы» представлена всесторонняя характеристика полученных антител, определены сайты узнавания для антител каждого клона, и показана их функциональная состоятельность. Особенное впечатление на меня произвели результаты, полученные при характеристике антител и их функциональной активности, который автор строил в формате 96-луночных плат, что говорит о виртуозном владении этими биохимическими методами. Особенно приятно, что при каждом анализе автор представлял схему взаимодействия отдельных компонентов каждой конкретной системы.

Не совсем однозначное впечатление производит глава «Изучение биологической активности рАМГ in vitro». На рис.41 представлены кривые, которые показывают цитотоксическое действие производных рАМГ в отношении клеток линии NBL-7 по

результатам исследования с помощью реактива ХТТ. Данные представлены как % ингибирования роста. Это сбивает с толку, не ясно, что при этом имеется ввиду. Не проще ли было показать данные в виде доли живых клеток, как это принято в научной литературе? То же относится к рис. 42В. Данные, представленные на рис.45 не выглядят убедительными, трудно заметить разницу в развитии опухолевых узлов у нелеченных животных или животных, получавших препарат в какой-либо дозе.

Ценность представляют результаты по фармакинетике, к этому разделу у меня нет претензий. Глава Результаты работы завершается разделом «Анализ содержания двух форм АМГ в пробах сыворотки крови человека в различные периоды жизни» и совершенно выбивается из ткани повествования. Эти данные интересные, и обладают определенной ценностью, поскольку доказывают, что полученные в процессе исследования антитела пригодны для использования в медицинской практике, но почему этот раздел представлен после данных о функциональной активности АМГ? Они были бы более уместны при описании собственно полученных антител.

В главе «Обсуждение» автор обобщает и обсуждает полученные данные. Есть еще глава «Заключение», в которой, по сути, это обсуждение продолжается.

Характеризуя работу Рак А.Я. в целом, хочу отметить, что ее выводы логично следуют из полученных данных и полностью соответствуют поставленным задачам. Сама диссертация производит хорошее впечатление, и полученные в процессе данные имеют собственную практическую ценность. Панели антител к АМГ и MISRII, безусловно, могут быть востребованы практической медициной. Замечания, высказанные в рецензии не влияют на высокую оценку работы в целом. Методики адекватны поставленным задачам. Достоверность данных не вызывает сомнений. Выводы, приведенные в конце работы, соответствуют ее содержанию и логично вытекают из анализа собственных данных автора. Количество публикаций, напечатанных в рекомендуемых ВАК и авторитетных рецензируемых журналах, вполне достаточно. Автореферат полностью отражает основные результаты диссертации.

Заключение. Исходя из актуальности, научной новизны, и, особенно, практической значимости, присущих данной работе, можно заключить, что диссертация Рак Александры Яковлевны является законченной научно-квалификационной работой,

соответствующей всем требованиям (в частности п.9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016г. №335; от 02.08.2016 №748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант Рак Александра Яковлевна заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Официальный оппонент

Гужова Ирина Владимировна,

доктор биологических наук,

главный научный сотрудник Лаборатории защитных механизмов клетки Отдела молекулярных и клеточных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения Института цитологии Российской академии наук

Контактные данные:

Тел: 8(812)297-37-94

e-mail: irina.guzh@gmail.com

Почтовый адрес: 194064 г.Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. 4

Подпись д.б.н. Гужовой Ирины Владимировны заверяю:

Ученый секретарь ИНЦ РАН

Кандидат биологических наук

Тюряева Ирина Ивановна

Дата: 31 мая

