

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Максимчик Полины Валентиновны «Стимуляция гибели опухолевых клеток воздействием на их энергетику», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.08 – Биоинженерия и 03.01.04 - Биохимия

Актуальность темы диссертации.

Одним из важнейших физиологических изменений, ведущих к возникновению опухолей является подавление апоптоза, наиболее изученной формы программируемой гибели клеток, ответственной за удаление из организма потенциально опасных или поврежденных клеток. Соответственно, стимуляция апоптоза с использованием различных методов биоинженерии и биохимии в раковых клетках является перспективной стратегией их элиминирования. Метаболические пути, лежащие в основе апоптоза подавлены в опухолевых клетках, что обусловлено особенностями их метаболизма. Подавление гликолиза в опухолевых клетках может выступать перспективной мишенью в направлении стимуляции гибели клеток опухоли. Ответ на вопрос, в какой степени модуляция энергетики клетки будет способствовать элиминации клеток опухоли, является чрезвычайно важным для выработки эффективного направления противоопухолевой терапии, для поиска которого необходимо задействовать современные направления и возможности биоинженерии. Наиболее рационально применение комплексного воздействия на опухолевые клетки, включающее наряду с традиционно применяемыми препаратами ингибиторы энергетики, стимуляторы окислительного стресса, ингибиторы белков транспортеров, и изучение молекулярных основ ответа клеток с использованием биоинженерных методов. Таким образом, работа Максимчик П.В. обладает необходимой для диссертационного исследования актуальностью и отвечает требованиям научности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Автор приводит подробные и тщательные описания методик, использованных при выполнении экспериментальной работы, а также при дальнейшей обработке данных.

Использованные методы являются точными, воспроизводимыми и общепринятыми. Достоверность полученных результатов сомнений не вызывает.

Результаты, представленные в работе, а также основанные на экспериментальных данных выводы, обладают высокой степенью научной новизны.

Ценность полученных в работе результатов в науке и практике.

Проводимые в рамках данной работы исследования помогают установить место энергетических процессов, протекающих в опухолевых клетках, в их сопротивлении действию противоопухолевых препаратов. Понимание механизмов, вовлеченных в выживание опухолевых клеток, позволит разработать новые эффективные методы терапии.

Содержание диссертации.

Диссертация построена по общепринятому образцу и включает в себя главы Введение, Обзор литературы, Методы, Результаты и их Обсуждение, Выводы и Список литературы. Работа изложена на 128 страницах, содержит 20 рисунков и 1 таблицу. Список использованной литературы содержит 221 источник.

Раздел Введение содержит обоснованное обоснование необходимости и актуальности данного исследования.

Раздел Обзор литературы содержит подробный анализ публикаций по тематике работы. Данный раздел будет интересен для специалистов, которые захотят продолжить исследования по данной тематике.

В разделе Материалы и Методы представлено подробное описание использованных в работе методов и подходов.

Раздел Результаты содержит описание полученных автором экспериментальных данных и их анализ. Авторами было показано, что обработка опухолевых клеток TET21N, SH-SY5Y, SK-N-BE(2) и RKO ингибитором гликолиза 2-ДГ усиливает апоптоз, индуцированный цисплатином, но подавляет его в клетках НСТ116. Удаление глутамина из среды стимулирует цитотоксический эффект цисплатина в клетках нейробластомы TET21N, но подавляет апоптоз, индуцированный этопозидом. Конъюгация препарата БК с TPP+ позволяет существенно снизить действующую концентрацию препарата, тем самым устраняя побочные, немитохондриальные его эффекты. Эффективность производных БК возрастала в несколько раз по сравнению с немодифицированной кислотой.

Обработка опухолевых клеток различной этиологии (колоректальный рак HCT116, RKO и нейробластома SH-SY5Y) наночастицами DOX-PSi NPs была эффективнее в сравнении с обработкой свободным DOX. При нагрузке наночастиц PSi NPs доксорубином в концентрации до 2,5 мкМ клетки погибали по типу апоптоза. Повышение концентрации DOX в наночастицах до 5 мкМ приводило к некрозу. Активация транскрипционного фактора HIF-1 α запускает процесс, приводящий к подавлению накопления доксорубина в клетке. Обработка клеток ингибитором верапамилом P-gr предотвращала удаление доксорубина и существенно стимулировала клеточную гибель. Полученные в диссертационной работе данные позволяют рассматривать гликопротеин P-gr в качестве одной из мишеней для стимуляции терапевтической активности препаратов, что, несомненно, будет способствовать эффективной элиминации опухолевых клеток при использовании терапевтических концентраций противоопухолевых средств. В разделе Обсуждение автор обобщает полученные экспериментальные данные. В разделе Список литературы содержатся ссылки по тематике исследования.

Однако, при всех отмеченных достоинствах, работа содержит ряд спорных моментов.

Измерение с помощью Вестерн блота количества расщепленного ПАРП является не самой удачной методикой для исследования каспаза-3 зависимого апоптоза. Для ПАРП известно большое количество других активаторов, в том числе и не каспазной природы. Правда нужно отметить, что авторы редко используют расщепление ПАРП в качестве единственного критерия оценки клеточной смерти.

Методика подсчета мертвых клеток с помощью измерения subG1 фракции методом проточной цитофлуориметрии также не самая надежная, правда авторам удалось получить для нее очень чистые контроли, что позволяет полностью доверять представленным данным.

Следует отметить, что все высказанные замечания носят рекомендательный характер и не ставят под сомнение суть представленных результатов. Работы выполнены на высоком уровне, а Максимчик П.В. в ходе ее выполнения стала молодым специалистом.

Содержание автореферата.

Автореферат построен по традиционному плану и содержит все требуемые

разделы. Он полностью отражает содержание работы.

Заключение.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспортам специальностей 03.01.08 – «Биоинженерия» и 03.01.04 – «Биохимия» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Максимчик Полина Валентиновна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.08 – «Биоинженерия» и 03.01.04 – «Биохимия».

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммуногенетики рака
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биологии гена Российской академии наук

Яшин Денис Владимирович

27.11.18

Подпись дата

Контактные данные

Тел. +7 (499) 135-97-63, e-mail: vashin_co@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.03- молекулярная биология

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5



подпись Яшина Н.В.
ЗАВЕРЯЮ Яшин
Ученый секретарь ИБГ РАН Набировкина Е.Н.