

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Коваль Ольги Александровны** на тему «**Разработка новых подходов противоопухолевой терапии и моделей для анализа их эффективности**», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология.

Актуальность темы выполненной работы

Онкологические заболевания являются одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения как в России, так и в мире, поэтому не вызывает сомнений значимость и актуальность разработки новых противоопухолевых препаратов и методов лечения. В диссертационной работе Коваль О.А. излагаются результаты исследований по разработке новых противоопухолевых препаратов и подходов, а также по получению клеточных и опухолевых моделей для тестирования их противоопухолевой активности. Разработка новых фармакологических препаратов является трудоемким и дорогостоящим процессом и требует адекватных моделей для тестирования их эффективности, специфичности и безопасности. В данной работе созданы и охарактеризованы ряд новых клеточных и опухолевых моделей рака молочной железы и эндометрия человека, позволяющие тестировать новые противоопухолевые препараты, в том числе таргетные. Полученные и охарактеризованные по представленности молекулярных маркеров культуры клеток могут быть востребованы также в фундаментальных исследованиях механизмов канцерогенеза и метастазирования, и для создания 3D-клеточных моделей, что свидетельствует о высокой практической значимости исследования.

Активация противоопухолевого иммунного ответа является одной из актуальных, многообещающих и эффективных стратегий в лечении раковых заболеваний. В рамках представляемого исследования разработаны два новых иммунотерапевтических агента с противоопухолевой и антиметастатической активностью на основе цитотоксического белка молока человека лактапина, а именно рекомбинантный вирус осповакцины и модифицированные CAR-NK-клетки. Результаты исследования свидетельствуют о высоком потенциале практического применения указанных агентов.

Все полученные в исследовании данные являются оригинальными и актуальными, а также закладывают основу для дальнейшего усовершенствования подходов к противораковой терапии.

Структура и объем диссертации

Диссертация в виде научного доклада Коваль О.А. изложена на 41 странице, содержит введение, описание результатов исследования с их обсуждением, выводы, список публикаций по теме диссертации. Работа содержит 25 рисунков и 6 таблиц.

Во «Введении» автор формулирует цели и задачи своей работы, обосновывает актуальность проблемы исследования, оценивает научную новизну, отмечает теоретическую и практическую значимость результатов, формулирует положения, выносимые на защиту. Раздел о личном вкладе автора в полученных результатах подробно и четко отражает как личный вклад автора, так и вклад коллег-ученых, принимавших участие в совместных работах по теме диссертации.

В целом диссертационная работа производит хорошее впечатление. Исследование выполнено на высоком методическом уровне, сформулированные в работе выводы

базируются на обширном экспериментальном материале.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов.

Результаты, полученные в диссертационной работе Коваль О.А. имеют высокую практическую значимость. Депонирование новых культур клеток в Специализированную коллекцию культур клеток позвоночных Российской коллекции клеточных культур (ИНЦ РАН, Санкт-Петербург) делает их доступными для широкого круга исследователей. Полученные в работе новые клеточные и опухолевые модели будут полезны для исследователей, работающих в области молекулярной онкологии и изучающих процессы канцерогенеза и опухолевой прогрессии, а также для специалистов, работающих в области онкофармакологии. Исследование новых способов индукции мезенхимально-эпителиального перехода является существенным для понимания фундаментальных аспектов метастазирования.

Выявление особенностей индукции гибели опухолевых клеток, под действием рекомбинантного аналога лактапина позволило предложить молекулярный механизм его действия, что в дальнейшем позволит направленно разрабатывать новые противоопухолевые подходы на основе лактапина. Одним из таких подходов уже стала разработка потенциальных таргетных клеточных препаратов - модифицированных НК-клеток человека, продуцирующих аналог лактапина и несущих химерный антигенный рецептор (CAR) к простат-специфическому мембранному антигену человека. Эти клетки продемонстрировали высокий антиметастатический потенциал в отношении опухолевой модели, также разработанной в данном исследовании. Отдельно стоит отметить высокую практическую значимость разработанного в исследовании прототипа препарата рекомбинантного вируса осповакцины человека, продуцирующего аналог лактапина, и успешно прошедшего стадию доклинических исследований.

Результаты, полученные при исследовании цитотоксической активности струи холодной плазмы, позволяют оптимизировать условия генерации плазменной струи и проводить усовершенствование оборудования для достижения противоопухолевых эффектов *in vivo*.

Все представленные результаты являются новыми и имеют большой потенциал как для разработки подходов к терапии рака, так и для исследования молекулярных механизмов индукции гибели опухолевых клеток, механизмов опухолевой прогрессии и метастазирования.

Сделанные в работе выводы имеют как теоретическую, так и практическую значимость.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием комплекса современных методов исследований, тщательным анализом полученных данных и подтверждается их воспроизведением с помощью разных подходов. При анализе разных наборов данных использовались корректные способы статистической обработки. Выносимые на защиту научные положения основаны на обширном фактическом материале, полученном как самим автором, так и в соавторстве с другими участниками научного коллектива и коллегами из других научных организаций. Выводы диссертационной работы основаны на полученных результатах.

Результаты диссертационной работы были представлены автором и соавторами на многочисленных международных и российских научных конференциях. По теме диссертации опубликована 21 статья в научных изданиях, рекомендованных Министерством образования и науки Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных работ, имеется 6 патентов. Статьи и патенты по теме диссертации получены за последние 10 лет, половина опубликованных по теме диссертации работ опубликована в зарубежных журналах с хорошим рейтингом - импакт-фактор 3.5 и выше.

Общие замечания.

Недостатки, которые можно обнаружить при детальном ознакомлении с диссертацией:

1. Ввиду большого количества разнообразных экспериментов диссертация в виде научного доклада перегружена фактической информацией. Работа выиграла бы еще больше, при разделении главы об исследовании механизма действия рекомбинантного аналога лактапина RL2 на подглавы.

2. Следует с осторожностью говорить о снижении мембранного потенциала митохондрий, при определении косвенными методами, если не было проведено прямое измерение мембранного потенциала с помощью Кларковского электрода.

3. Только часть рисунков, демонстрирующих результаты терапевтического действия исследуемых препаратов на мышах-опухоленосителях, содержат схематическое представление дизайна эксперимента (режимы и кратность введения). Учитывая ограничение по объему диссертации в виде научного доклада, дополнение рисунков схемами могло значительно облегчить восприятие экспериментальных данных.

4. При описании сконструированных CAR-NK-клеток следовало более подробно обсудить возможную роль утраты гена белка Shp2 в изменении цитотоксической активности этих клеток по отношению к клеткам-мишеням.

5. Из текста диссертации не до конца понятен посыл создания PSMA-позитивной клеточной линии рака молочной железы человека. Насколько приближена созданная клеточная модель к реально существующим метастатическим формам рака простаты или рака молочной железы?

6. Выражение “функция киллинга клеток-мишеней” при описании CAR-NK-клеток, воспринималось бы благозвучнее при использовании русскоязычной версии, например, “функция уничтожения клеток-мишеней”.

Сделанные замечания имеют дискуссионный характер, не умаляют научной ценности полученных данных и сделанных выводов, и не снижают общего очень хорошего впечатления от диссертационной работы.

Заключение

На основе всего вышеизложенного можно сделать вывод, что диссертационная работа Коваль Ольги Александровны является цельным завершенным научным исследованием, полностью соответствует требованиям и критериям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям,

