

ВІДЗІВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Козак Юлії Сергіївни «Механізми дії антиоксидантів у модуляції терапевтичного ефекту протипухлинних препаратів на моделях експериментальних пухлин у миши»**, представленої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Актуальність теми. Дисертаційна робота Козак Ю.С. присвячена дослідженням біохімічних та клітинних механізмів цито- та тканинно-протекторних властивостей антиоксидантів похідних селену та вітаміну В₅ за їх комбінованої дії із протипухлинними препаратами - доксорубіцином і цисплатином.

Однією з важливих проблем сучасної хіміотерапії є швидкий розвиток множинної медикаментозної резистентності (ММР) злюкісних клітин, що істотно послаблює ефективність лікування онкохворих. Основною причиною розвитку ММР є надмірна експресія білків-транспортерів ліків і система глутатіону, що відіграє ключову роль у захисті клітини від оксидативного стресу. Антиоксиданти можуть діяти як модулятори цієї системи. Надлишок активних форм оксигену (АФО) індукує запуск програми «самознищенння» нормальних клітин організму, що вважається основною причиною гепато-, кардіо- і нефротоксичності таких відомих протипухлинних препаратів, як доксорубіцин і цисплатин. Тому зменшення ознак оксидативного стресу специфічними антиоксидантами повинно також суттєво знизити токсичну дію цисплатину і доксорубіцину на нормальні клітини організму, що не є мішенями дії цих сполук, не впливаючи при цьому на їхню протипухлинну активність.

З огляду на вищевказане, **актуальність дисертаційної роботи** Козак Ю.С., яка присвячена розробці нових комбінованих хіміотерапевтичних схем лікування онкохворих та вивченню основних механізмів впливу антиоксидантів різної природи на протипухлинну активність хіміотерапевтичних сполук *in vitro* та *in vivo* не викликає сумнівів.

Ступінь обґрутованості наукових положень та висновків, які сформульовані у дисертації, їх достовірність і новизна. Дисертаційна робота включає вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, їх узагальнення, висновки та список використаної літератури, який включає 276 джерел. Робота ілюстрована 59 рисунками і 6 таблицями.

У вступі автор аргументує актуальність проведених досліджень, чітко і науково грамотно формулює загальну мету і конкретні завдання досліджень.

Огляд літератури (розділ 1) містить всебічний аналіз сучасного стану розвитку наукових знань за напрямком дисертаційної роботи. Розділ написаний у логічній послідовності: висвітлено важливу роль низької селективності протипухлинних препаратів і швидкого розвитку медикаментозної резистентності в ефективності лікування онкохворих. Дисерантка наводить дані літератури про застосування специфічних антиоксидантних сполук, здатних знищити негативний вплив хіміотерапевтичних препаратів і сенсибілізувати резистентні злойкісні клітини до дії протипухлинних препаратів.

У розділі «Матеріали і методи досліджень» дисерантка детально описує об'єкт дослідження та умови проведення експерименту. Для досягнення поставленої мети коректно використовує біохімічні, фізіологічні, біофізичні та статистичні методи досліджень, які дозволили авторці виконати поставлені завдання.

Представлені експериментальні результати (розділ 3) логічно пов'язані з метою і поставленими задачами. Наукові положення та висновки добре сформульовані та обґрунтовані і відображають отримані результати. Авторкою встановлено достатню кількість нових фактів, важливих для розвитку сучасних уявлень про молекулярні та біохімічні механізми впливу антиоксидантів (селеніту натрію, селенометіоніну, D-пантетину) на протипухлинну активність традиційних хіміотерапевтичних засобів – доксорубіцину, цисплатину. Обґрунтовано доцільність застосування окремих антиоксидантів у комбінованих хіміотерапевтичних схемах для лікування мишей з експериментальними пухлинами.

Дисеранткою вперше встановлено, що застосування селенометіоніну і D-пантетину в поєднанні з доксорубіцином знижує негативні побічні ефекти останнього. Ці антиоксиданти нейтралізують нефротоксичність доксорубіцину та індукований ним моноцитоз. Комбіноване використання доксорубіцину із селенометіоніном чи D-пантетином усуває нейтрофілоз та лімфопенію, викликані ростом лімфоми NK/Ly чи меланоми B16F10/wt. Спільне застосування цього антибіотика з антиоксидантами нормалізує негативні побічні ефекти до контрольного рівня. Доксорубіцин у поєднанні з селенометіоніном чи D-пантетином зменшує гостру кардіотоксичність шляхом зниження аспартатамінотрансферазної активності та нормалізації коефіцієнта де Рітіса у сироватці крові мишей-пухлиноносіїв. Комбіноване лікування тварин доксорубіцином та антиоксидантами призводить до збільшення тривалості життя тварин з лімфомою NK/Ly і зменшенням об'єму пухлини у мишей з меланомою B16F10/wt. Отримані дані свідчать про виражену тканинно-захисну дію селенометіоніну та D-пантетину в організмі

мишей з експериментальними пухлинами, а також про помітний терапевтичний ефект від їх сумісного застосування з доксорубіцином. В основі таких властивостей антиоксидантів лежить їхня здатність підвищувати селективність дії доксорубіцину та цисплатину, впливати на функціональний стан системи глутатіону і частково зменшувати доксорубіцин-індуковану продукцію активних форм оксигену.

Одержані результати дозволяють пояснити біохімічні механізми поєднання антиоксидантів з хіміопрепаратами у клінічній практиці, що лежить в основі синергізму у протипухлинній дії ліків та специфічних антиоксидантів. Авторкою роботи розроблено нові схеми поліхіміотерапії раку з використанням доксорубіцину, селенометіоніну чи D-пантетину і проведено їх доклінічні дослідження на миших з експериментальними моделями пухлин (меланома B16F10/wt, лімфома NK/Ly). Основні положення дисертаційної роботи впроваджені у матеріали загального курсу «Проблемні питання сучасної біології» і спецкурсу «Молекулярні механізми злойкісної трансформації клітин» для студентів-магістрів біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

Результати досліджень викладені з належною повнотою, ілюстровані великою кількістю рисунків, графіків, хімічних формул і таблиць, що суттєво полегшує сприймання матеріалу і проведення наукової експертизи. Отримані дані статистично оброблені і їх достовірність не викликає сумніву.

Про ґрунтовність обговорення, глибокий аналіз експериментальних результатів та їх коректну інтерпретацію свідчить розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», в якому здійснене широке порівняння отриманих результатів досліджень із даними літератури, що підтверджує основні положення цього розділу. Вперше з'ясовано біохімічні механізми, що лежать в основі тканинно-захисних та імуномодулюючих властивостей антиоксидантів, а також їх впливу на терапевтичну активність доксорубіцину в організмі мишей з лімфомою NK/Ly чи меланомою B16F10/wt. У роботі розроблено нові хіміотерапевтичні підходи на основі застосування протипухлинних препаратів спільно з антиоксидантними сполуками для пригнічення росту експериментальних пухлин, збільшення тривалості життя мишей-пухлиноносіїв і зменшення негативних побічних ефектів, викликаних хіміотерапевтичними сполуками.

Сформульовані висновки є цілком правомірними та логічно обґрунтованими, а отримані результати необхідно розцінювати як нові і пріоритетні.

Отже, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, наведених у дисертації Козак Ю.С., є високим. Це свідчить про те, що

дисерантка є добре кваліфікованою дослідницею, яка вміє критично аналізувати наукові факти і коректно інтерпретувати отримані результати.

Зауваження до дисертаційної роботи. Представлена до захисту дисертаційна робота Козак Ю.С. містить низку нових і важливих результатів. Позитивно оцінюючи матеріал дисертації в цілому, в опонента при аналізі цієї роботи виникли такі зауваження і побажання:

- 1) Авторкою роботи встановлено, що антиоксиданти селенометіонін і D-пантетин проявляють імуномодуляторну та нефропротекторну дію за застосування доксорубіцину, однак в роботі не розкриті механізми таких дій.
- 2) У роботі показано, що антиоксиданти сенситизують до дії ліків злоякісні клітини, стійкі до хіміотерапії, і показано, що при цьому не відбуваються зміни в продукції АФК. Разом з тим, авторка не наводить даних щодо функціонального стану мітохондрій у цих же клітинах, хоча відомо, що ці органели відіграють одну з головних ролей у генеруванні АФК.
- 3) Дуже актуальним питанням є продовження тривалості життя тварин-пухлиноносіїв, зокрема мишей з лімфомою NK/Ly, що отримували антиоксиданти разом з доксорубіцином. У той же час, на моделі мишації меланоми B16F10/wt такого ефекту не виявлено. Чи можна у такому випадку досягти повного клінічного вилікування тварин? Якщо так, то що для цього треба - збільшити дозу антиоксидантів, чи продовжити тривалість курсу лікування ними?

Зазначені зауваження носять доброзичливо-дискусійний характер, не впливають суттєво на оцінку результатів, наведених у роботі, і не знижують наукового рівня та цінності дисертаційної роботи, а спрямовані лише на покращення спрямованості подальших досліджень.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Козак Ю.С. «Механізми дії антиоксидантів у модуляції терапевтичного ефекту протипухлинних препаратів на моделях експериментальних пухлин у миши» має завершений характер і відповідає чинним вимогам до кандидатських дисертацій. Експериментальні дані проаналізовані і статистично опрацьовані. Наукові положення, висновки та рекомендації обґрунтовані і логічно випливають з отриманих результатів. Все це відзеркалює особистий внесок Козак Ю.С. у фундаментальну науку з проблеми, важливої для сучасної біохімії.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані у дисертації та в опублікованих працях. Результати досліджень, основні положення і висновки дисертації знайшли повне

відображення у змісті автореферату дисертації. Матеріали дисертацій аprobовані на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях, опубліковані у 18 друкованих працях, з яких – 6 статей у фахових наукових виданнях (сумарний імпакт-фактор публікацій становить 6,37) та 12 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій.

Висновок. Дисертаційна робота Козак Ю.С. є змістовою, закінченою самостійною науковою роботою з біохімії, в якій одержано низку нових і цікавих даних, важливих як у теоретичному, так і практичному аспектах. Вважаю, що за свою актуальністю, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, новизною отриманих результатів, логічністю й обґрунтованістю висновків дисертаційна робота «Механізми дії антиоксидантів у модуляції терапевтичного ефекту протипухлинних препаратів на моделях експериментальних пухлин у миші» відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою КМУ №567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12. 2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.) до кандидатських дисертацій, а її авторка Козак Юлія Сергіївна заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент

головний науковий співробітник
Київського національного
університету імені Тараса Шевченка

В.К. Рибальченко
Доктор біологічних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки
України

Підпись В.К. Рибальченка засвідчує:

*Вчений секретар НДЧ
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка*

