

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, заведующей лабораторией фармакологии пептидов отдела биогеронтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии И.Г. Попович на диссертацию Мирьи Леонидовны Курановой «Клеточные и молекулярные механизмы проявления атаксии-телеангиэктазии», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы диссертации

Атаксия-телеангиэктазия (АТ) является тяжёлым прогрессирующим мультисистемным нейродегенеративным орфанным заболеванием с признаками преждевременного старения и высоким риском образования опухолей, возникающем по причине мутации в гене *ATM*. Данный ген кодирует протеинкиназу ATM, которая играет ключевую роль в ответе клетки на повреждение ДНК при образовании двунитевых разрывов в ответ на действие генотоксических агентов или конформационных изменений хроматина при действии хроматин-ремодулирующих агентов.

Клетки пациентов АТ являются стандартной моделью для изучения одновременно как процессов старения и канцерогенеза, так как у таких пациентов может реализовываться как программа клеточного старения, так и программа опухолевой трансформации.

Клиническая картина при АТ полиморфна и возможны затруднения при диагностике из-за различия форм протекания заболевания. На сегодняшний день описано более 100 мутаций, приводящих к развитию данного заболевания. Ген *ATM* имеет размер 150 т.п.н. и содержит 66 экзонов.

Рецензируемая работа посвящена исследованию клеточных и молекулярных особенностей проявления АТ. При этом изучен широкий

спектр клеточных маркеров на достаточно большой исследуемой группе клеточных линий, в которую входят как линии от здорового донора, так и от пациентов с редкими наследственными синдромами дефектов репарации ДНК. Учитывая выше сказанное, актуальность темы диссертации не вызывает сомнения.

Научная новизна и практическая значимость исследования

Исследование клеточных и молекулярных особенностей проявления АТ проводилось на клеточных линиях от пяти пациентов с разной формой заболевания, среди которых была линия с молекулярно подтверждённым диагнозом АТ из Университета графства Сессекс, Великобритания.

В ходе работы впервые был предложен быстрый метод уточнения диагноза АТ на клеточном уровне основанный на детекции активной формы протеинкиназы АТМ – $p\text{ATM}^{\text{Ser1981}}$.

Впервые описана на клеточном уровне мозаичность при АТ. Были выявлены пациенты, часть клеток которых не содержала $p\text{ATM}^{\text{Ser1981}}$, что характерно для АТ, а часть – соответствовала нормальному клеточному фенотипу и содержала $p\text{-ATM}^{\text{Ser1981}}$.

Впервые были обнаружено повышение количества гистоновой деацетилазы SIRT6 в ядрах клеток пациентов АТ по сравнению с клетками других пациентов с наследственными нарушениями репарации ДНК: синдром повышенной радиочувствительности неясной этиологии, синдром Секкея, синдром наследственного рака молочной железы (мутация 5382insC в гене *BRCA1*).

Важными для прикладной медицины являются результаты, не вошедшие в выводы. Например, предложенный метод клеточной диагностики синдрома Секкея 1 типа, основанный на детекции сайтов фосфорилирования протеинкиназ АТМ и АТР – phosphor-(Ser/Thr) АТМ/АТР (p53, p95/NBS1, MDM2, Check2, BDCA1, CtlP, E4BP1 и Chk1).

Следует отметить, что некоторые полученные результаты заслуживают более широкого раскрытия, например, накопление aberrаций ядерной ламины и данные о длин теломер. Можно было более детально проанализировать, почему у самой тяжёлой формы АТ доля aberrаций ядерной ламины меньше, чем у всех других исследуемых линий, а длины теломер мало отличаются от длин здорового донора, не смотря на имеющиеся литературные данные о значительном укорочении теломер при АТ.

Однако, высказанные замечания не снижают общей ценности рецензируемой работы, а её результаты и выводы дают основания для положительной оценки проведённого автором исследования.

Общая характеристика работы

Диссертация построена по традиционному плану. Литературный обзор написан достаточно логично, опирается на новейшие литературные данные и соответствует теме диссертации. Список литературы насчитывает 151 наименование. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации. Результаты работы изложены в 18 публикациях, 3 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК, а также были представленные и обсуждены на конференциях и конгрессах, в том числе и международных.

Обоснованность основных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа выполнена на большой группе клеточных линий. Эксперименты проводились в трёх повторениях. Диссертантом использованы достаточно современные методы работы на клеточных линиях. Все выводы и положения, выносимые на защиту, основаны на статистических достоверных результатах

Также работа содержит материалы, не вошедшие в выводы, но важные для понимания механизмов канцерогенеза и старения. Например, данные о содержании фермента SA- β -Gal в клетках пациента с синдромами Секкеля и наследственной формы рака молочной железы (мутация 5382insC в гене *BRCA1*). В клетках этих пациентов наблюдалось самое высокое содержание данного фермента и самый высокий процент накоплений абберраций ядерной ламины при разных показателях маркера старения HP1- γ . У пациента с синдромом Секкеля средняя интенсивность флуоресценции оказалась достоверно ниже, чем у здорового донора, а у пациента с наследственной формы рака молочной железы – более чем в 2 раза выше.

Замечания

В целом, работа представляет собой завершенное научное исследование, имеющее практическое применение, в частности, разработан клеточный метод, помогающий уточнить диагноз АТ при сложных клинических случаях и выявить мозаичные формы атаксии-телеангиэктазии. Однако, в диссертационной работе имеются некоторые недоработки. Так, на наш взгляд, не хватает более подробного описания клинических случаев пациентов. Данные о них можно было представить в удобной для восприятия форме, например, таблице.

В работе есть некоторое количество стилистических ошибок, неточностей и небрежностей, не все цитируемые источники приведены в списке литературы. Местами перепутаны номера графиков и некоторых рисунков. Автору, который несомненно хорошо владеет английским языком, о чем свидетельствует подробно и профессионально написанный раздел обзора литературы, не удалось избежать использования англицизмов, таких как «туморогенез» и не совсем точного перевода на русский язык некоторых других терминов.

и не вызывают сомнений. Полученные результаты имеют большую и практическую ценность.

Заключение

По актуальности, новизне и объёму проведённых исследований диссертация Мирьи Леонидовны Курановой «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктазии» является научной квалифицированной работой и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присвоения искомой степени по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология.

Д.б.н., заведующая лабораторией фармакологии
пептидов отдела биogerонтологии
Санкт-Петербургского института
биорегуляции и геронтологии

И.Г. Попович/

Подпись д.б.н. И.Г. Попович/

Начальник ОК института М.В. Соколова

26.12.2014г.

Данные об авторе отзыва:

Попович Ирина Григорьевна – д.б.н, заведующая лабораторией
фармакологии пептидов отдела биogerонтологии Санкт-Петербургского
института биорегуляции и геронтологии

Адрес: 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо д.3

Телефон: раб. (812) 2300049, моб. +79119490338

E-mail: popovich@gerontology.ru