

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФГБУ «НИИ онкологии

им. Н.Н. Петрова Минздрава РФ

им. профессора А.М. Беляев

29.12. 2014 г.



ОТЗЫВ

ведущего учреждения – Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава Российской Федерации на диссертационную работу Курановой Мирьи Леонидовны «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктазии», представленную к защите в совет по защите докторских и кандидатских диссертаций Д002.230.01 при ФГБУ «Институт цитологии» РАН на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология».

Актуальность темы диссертационной работы.

Атаксия-телеангиэктазия (АТ) является тяжёлым прогрессирующим мультисистемным нейродегенеративным заболеванием, с сопутствующими признаками ускоренного старения и канцерогенеза. Причиной данного заболевания являются мутации в гене *ATM*, который на данный момент описано более 100. Ген локализован в 11 хромосоме (11q23), имеет размер 150 т.п.н. и содержит 66 экзонов, что значительно затрудняет молекулярную диагностику АТ. Клиническая картина данного заболевания достаточно вариабельна и может представлять трудность для его диагностики. Разработанный Курановой М.Л. метод диагностики заболевания, основанный на выявлении активной формы протеинкиназы фосфо-АТМ (p-АТМ^{Ser1981}) удивляет своей простотой и логичностью и существенно облегчает работу врачам-клиницистам. Особый интерес представляют впервые описанные мозаичные формы заболевания АТ.

Нужно отметить уникальность контрольной группы, которую Курановой Мирье Леонидовне удалось подобрать в своей диссертации. Клеточные линии от пациентов, страдающих пигментной ксеродермой, синдромом Секкеля, разными

формами АТ представляют интерес как для фундаментальной науки, так и для врачей, занимающимися редкими наследственными заболеваниями.

Так как при АТ нарушено функционирование гена *ATM*, кодирующего протеинкиназу АТМ (Ataxia Telangiectasia Mutated), которая играет ключевую роль в ответе клетки на повреждение ДНК при образовании двунитевых разрывов ДНК, клетки пациентов с АТ являются важной моделью для исследования дефектов репарации ДНК.

В своей работе Мирья Леонидовна исследовала достаточно широкий спектр клеточных белков, которые вовлечены в процессы старения и канцерогенеза. Поэтому актуальность работы Курановой о клеточных и молекулярных особенностях проявления атаксии-телеангиэктазии не вызывает сомнения.

Научная новизна исследования, достоверность и обоснованность научных результатов.

Работа имеет высокий уровень новизны, подтверждённый установленными в ходе исследования фактами и опубликованными статьями. Важным и главным достижением работы является разработка клеточного метода диагностики АТ. Ранее не отмечались некоторые клеточные и биохимические особенности при АТ, например достоверное увеличение средней интенсивности флуоресценции гистона H3K27me3 и гистоновой деацетилазы SIRT6 в ядрах клеток пациентов с АТ по сравнению с контрольной группой.

Диссертация построена по традиционному плану, она изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц, иллюстрирована 41 рисунками и состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждения», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы». Последний включает 151 работу (11 отечественных и 140 зарубежных).

В обзоре литературы, занимающем почти половину работы (51 стр.), достаточно подробно изложена роль протеинкиназы АТМ в клеточном ответе на возникновение двунитевых разрывов ДНК, а также изменение структуры хроматина при данном процессе. Достаточно подробно изложены данные об эпигенетических изменениях триметилированных форм гистонов H3 (H3K9me3 и

H3K27me3) и гистоновых деацетилаз SIRT1 и SIRT6 при ускоренном старении и канцерогенезе. Работа сопровождается качественными иллюстрациями, что улучшает понимание материала.

Обзор основан на новейших литературных данных, построен очень логично, написан хорошим языком, легко читается и позволяет судить о высокой квалификации соискателя. В данном разделе нехватает информации о традиционном маркере старения – бета-галактозидазе, который логически напрашивается в контекст обзора.

Глава «Материалы и методы» позволяет судить о соискателе как о квалифицированном специалисте, владеющим современными методами работы с клеточными культурами. Нужно отметить кропотливый труд автора при выполнении достаточно большого объёма работы на клеточных линиях. Все эксперименты были проведены в трёх повторах. В данном разделе было бы удобнее представить информацию о пациентах в виде таблицы. Не хватает также более подробного описания клинических случаев.

Результаты работы и их обсуждение представлены на 38 страницах в главе «Результаты и обсуждение», написаны в стандартном стиле, хорошо иллюстрированы, содержат много фактической информации, приведённой в большом числе таблиц. Нужно отметить высококвалифицированный подход автора к анализу результатов. Например, разбиение значений интенсивности флуоресценции по условным диапазонам интенсивности флуоресценции анализируемых белков позволило выделить два условных пика интенсивности H3K27me3 и SIRT6 в ядрах клеток пациентов с мозаичной формой АТ, что подтвердило специфичность разработанного Мирьей Леонидовной клеточного метода диагностики АТ. Обсуждение результатов написано достаточно ясно и логично. Некоторые аспекты можно было раскрыть более широко. Например, почему в ядрах клеток пациента самой тяжёлой формы АТ (AT8SP) оказался самый маленький процент aberrаций ядерной ламины. Также в данной графе имеется самое большое количество неточностей и небрежностей: в некоторых местах перепутаны номера рисунков, не на всех рисунках есть масштабная линейка и т.д. Тем не менее, данные замечания не снижают уровня работы.

Закключение соответствует обобщению полученных результатов и их практическому применению, выводы – задачам. Формулировка некоторых задач и выводов могла быть более корректной. Например, не «Подбор подходящей группы клеточных линий...», а «подобрать группу клеточных линий...», не «изучить возможность ассоциации...», а «выявить состояние клеточных маркеров...» и т.д. Тем не менее, данные замечания не снижают актуальность работы Курановой Мирьи Леонидовны и оценку её вклада в разработку методов диагностики данного заболевания.

Основные результаты диссертации М.Л. Курановой опубликованы в 18 печатных работах, в том числе в 3 статьях в журналах, рекомендованных в ВАК для кандидатских диссертаций, представлены на международных и российских конференциях.

Оформление работы, в целом, логичное и понятное, но имеется определенное количество стилистических и пунктуационных ошибок. Например, «линии, полученные в нашей лаборатории», «предраковые опухоли», «туморогенез», есть опечатки.

Однако все замечания и вопросы не носят принципиального характера и не снижают общую положительную оценку диссертации.

Значимость результатов для науки и практики.

Полученные Курановой результаты представляют ценность для практической области медицины. Учитывая, что молекулярная диагностика данного заболевания в России не проводится по причине сложности выполнения (анализ 66 экзонов) и себестоимости, разработанный метод значительно облегчает задачу постановки диагноза для врачей-клиницистов при вариабельных клинических проявлениях данного заболевания. Описанные мозаичные формы АТ представляют интерес как для врачей, так и для биологов. Результаты исследования клеточных особенностей при АТ также важны для понимания механизмов старения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышеизложенного считаем, что представленная к защите диссертационная работа Курановой М.Л. «Клеточные и молекулярные особенности проявления атаксии-телеангиэктазии» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании проведённого автором исследования получены новые данные о клеточных методах диагностики и особенностях проявления нейродегенеративного тяжёлого наследственного заболевания – атаксия-телеангиэктазия. Диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842, утверждённого постановлением правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор, Куранова Мирья Леонидовна, заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсуждён и утверждён на заседании Отдела канцерогенеза и онкогеронтологии, протокол № 6 от «10» декабря 2014 г.

Руководитель Отдела
канцерогенеза и онкогеронтологии
ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава РФ (Санкт-Петербург)
Чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор



В.Н. Анисимов

старший научный сотрудник
лаборатории канцерогенеза и старения
канд.мед. наук



П.А. Егормин

Подписи В.Н. Анисимова и П.А. Егормина заверяю
Учёный секретарь ФГБУ «НИИ им. Н.Н. Петрова»
Минздрава РФ (Санкт-Петербург)

29 декабря 2014 г.



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России,
Адрес: 197758 Санкт-Петербург, пос Песочный, ул. Ленинградская, д. 68,
Тел.: +7 (81) 439-9534ж; факс: +7(812) 436-9567; Email: aging@mail.ru