

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента на дисертацію Нетроніної Ольги Володимирівни  
«Сіалові кислоти плазми та сіальованість лімфоцитів при хронічних  
лімфо- і мієлопроліферативних захворюваннях крові» на здобуття  
наукового ступеня кандидата біологічних наук  
за спеціальністю 03.00.04 – біохімія**

**Актуальність теми.** Дисертаційна робота Нетроніної О.В. присвячена актуальній тематиці сучасної біохімії – глікозилуванню компонентів плазматичної мембрани та міжклітинного матриксу. Склад та кількість олігосахаридних ланцюгів впливає на конформацію білкової частини глікопротеїнів та визначає їх антигену специфічність. Одним з найбільш важливих компонентів глікопротеїнів є сіалові кислоти – N-ацетилнейрамінова кислота та її похідні. Сіалові кислоти виконують ряд біологічних функцій, які включають в себе зв'язування і транспорт позитивно заряджених молекул, беруть участь в міжмолекулярній взаємодії між клітинами та регуляції сигналювання. Процес неоплазії супроводжується зміною гліканових складових трансформованих клітин. На сьогодні, кількісний та якісний склад глікопротеїнів сироватки крові у хворих з пухлинами кровотворної системи недостатньо вивчений, що зумовлює необхідність дослідження показників обміну глікопротеїнів в онкогематології. Тому дослідження сіалоглікопротеїнів в організмі хворих з пухлинами кровотворної тканини є актуальним для визначення можливості їх використання в якості маркера пухлинного процесу та ефективності застосування протипухлинних препаратів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вона є фрагментом наукових тем кафедри біохімії, медичної та фармацевтичної хімії за темою: “Посттрансляційні

зміни (модифікації) білків за умов патологічних процесів” (№ держреєстрації 0114U001279).

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій.** Схема побудови роботи традиційна. Дисертацію викладено на 158 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень та їх обговорення, узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, проілюстрована 44 рисунками та 7 таблицями. Список літератури включає 294 найменувань, з яких 233 – латиницею).

В огляді літератури автором критично проаналізований матеріал відносно структури, властивостей та біологічної ролі сіалових кислот, охарактеризовано і узагальнено уявлення про ферменти відповідальних за вміст сіалових кислот в складі глікопротеїнів (нейрамінідази, сіалілтрансферази). Описана структура лімфоцитів крові з точки зору наявності на їх поверхні сіалюваних глікокон'югатів. Приділена увага змінам концентрації сіалових кислот, нейрамінідаз та сіалілтрансфераз, а також стану лімфоцитів при онкологічних захворюваннях. В цілому розділ написаний компактно, легко читається. Дисертанка продемонструвала високий рівень обізнаності по досліджуваній проблемі.

У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» наведені підходи при проведенні експериментальних досліджень. Необхідно відмітити, що автором застосовані сучасні біохімічні методи, які відповідають поставленим завданням: це методи препаративної біохімії (одержання лімфоцитів, виділення мембран), аналітичної біохімії (спектрофотометрія, лектин-блот аналіз, електрофорез), молекулярно-біологічні (полімеразна ланцюгова реакція), протокової цитофлуориметрії, конфокальної мікроскопії, статистичний аналіз.

Результати та їх обговорення представлені у 3 розділах власних експериментальних досліджень, які проведені на високому науково-методичному рівні з використанням сучасного обладнання. На першому етапі дисертантка вивчає розподіл сіалових кислот (Розділ 3. Визначення сіалових кислот при гематоонкологічних захворюваннях). Отримані результати сформульовані у перших трьох висновках:

1. Вміст сіалових кислот у плазмі крові та входження їх до складу глікопротеїнів лімфоцитів змінюються при онкопроліферативних захворюваннях порівняно з клітинами крові гематологічно здорових донорів. Концентрація загальних сіалових кислот у плазмі крові зростає при В-хронічному лімфолейкозі на 37,4 % ( $p \leq 0,05$ ), справжній поліцитемії – на 43 % ( $p \leq 0,05$ ), сублейкемічному мієлозі – на 22,3 % ( $p \leq 0,05$ ).
2. Проведення цитостатичної терапії за схемою COP (циклофосфамід, онковін (вінкрістін), преднізолон) викликало зниження концентрації загальних сіалових кислот на 30 % уже на першу добу проведеного лікування з подальшим зростанням після закінчення хіміотерапії, одна їх концентрація залишалася вірогідно нижчою (на 16 %) порівняно з даними до початку лікування. При застосуванні CNOP терапії (вінкрістін, доскорубіцин, циклофосфамід, преднізолон) спостерігали іншу тенденцію, а саме збільшення концентрації загальних сіалових кислот на 10 % відносно величини до лікування та подальше її зростання на 22 % після завершення курсу терапії.
3. В-хронічний лімфолейкоз супроводжується перерозподілом різних форм сіалових кислот порівняно з нормою: зростає вміст вільних (в 15,8 раза) та олігомерних (в 2,6 раза) сіалових кислот, а протеїнозв'язаних – знижується (на 73,6 %). При проведенні цитостатичної терапії концентрація вільних сіалових кислот також підвищується, а протеїнозв'язаних – знижується. Після закінчення лікування усі

досліджувані показники повертаються до значень, які були перед використанням протипухлинних препаратів.

У Розділі 4. Визначення активності нейрамінідази дисертантка встановила (висновок 4):

У хворих на мієло- та лімфопроліферативні захворювання крові достовірно збільшується активність нейрамінідази порівняно з контролем: при В-ХЛЛ – на 25,5 %, при справжній поліцитемії – на 37,7 %, при сублейкемічному мієлозі – на 47,9 %. Цитостатична терапія у хворих на В-хронічний лімфолейкоз призводить до зниження активності нейрамінідази на 22,6 % відносно значень цього показника у хворих до початку лікування та має однакову спрямованість з динамікою змін концентрації загальних сіалових кислот у плазмі крові.

Результати Розділу 5. Визначення сіалованості клітин крові – висвітлені у висновку 5 та 6.

У розділі 6 наданий аналіз та узагальнення результатів дослідження.

Цікавими є результати вивчення впливу різних протоколів лікування. Особливий інтерес становить дослідження проте, що сіалованість мембран лімфоцитів крові хворих на В-хронічний лімфолейкоз (В-ХЛЛ) змінюється на різних етапах лікування цитостатичними препаратами.

Дисертаційна робота Нетроніної О.В. є цілісним дослідженням, результати добре апробовані на вітчизняних і міжнародних фахових конференціях, а також публікаціях у фахових та закордонних виданнях.

Проте можна висловити деякі зауваження і запитання до представленої роботи, які не впливають на її значимість:

1. У роботі проведено багато експериментальних досліджень, але отримані результати слід детальніше обговорювати виходячи із співвідношення власних результатів. Особливо в заключній частині багато обговорюється глікозилювання різних класів імуноглобулінів, але в роботі це було висвітлено. Чи проводився кореляційний аналіз між різними складовими експерименту?

2. У розділу «Матеріали і методи» надано метод **диск**-електрофорезу. Який тип електрофорезу застосовувався у роботі: диск-електрофорез чи ПААГ електрофорез у пластинах?
3. Чому для визначення загальної кількості протеїнів у дослідних зразках був обраний метод Бредфорд, а не Лоурі?
4. Для кількісного аналізу сіалових кислот використовували - гідролізуючий та кольороутворюючий реагенти. З чого вони складаються?
5. З реакцією сіалових кислот із тіобарбітуровою кислотою, як враховувалась реакція ТБК-активних сполук?
6. Дисертантка вказує, що аналіз літератури показав існування різних поглядів на залежність рівня сіалових кислот від віку, статі у здорових донорів. Яка думка дисертантки з цього питання за результатами власних даних: вік та гендерна належність впливають на концентрацію сіалових кислот у сироватці крові чи ні?
7. Чи впливає ступінь сіалілування мембран лімфоцитів на взаємодію з системою комплементу?
8. Є зауваження щодо граматичних помилок (особливо у висновках: «Доскорубіцин», «одна їх концентрація (за текстом мабуть - однак», «термінальними **б**2,3- та **б**2,6-сіаловими кислотами», та ін. А також до оформлення графічного матеріалу: не на всіх гістограмах вказано вірогідність змін (рис. 3.9, 4.1, 5.4, 5.24).

Загалом дисертаційна робота справляє добре враження, актуальність, новизна, обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність не викликає сумнівів. Робота має теоретичне і практичне значення. Всі одержані дані про кількість та розподіл різних форм сіалових кислот мембран лімфоцитів у розвитку і перебігу хронічних лімфо- та мієлопроліферативних захворювань крові мають велике значення як для фундаментальної біохімії, так і для практичного застосування у біології та медицині.

Основні результати роботи викладені в 15 наукових працях, у тому числі 3 статті у фахових наукових виданнях, 1 стаття у наукометричному виданні, 2 в міжнародних виданнях; отримано 1 патент на винахід; 8 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій та з'їздів. Публікації в повній мірі відображають основні положення, висновки та рекомендації, які сформульовані в дисертації. Основні положення дисертації ідентичні вмісту автореферату. Висновки роботи відповідають завданням досліджень, достовірність яких не викликає сумнівів. Дисертація є закінченим науковим дослідженням.

**Висновок.** Враховуючи вище викладене: актуальність, новизну, високий науково-методичний рівень, теоретичне і практичне значення роботи, обґрунтованість наукових положень висновків і рекомендацій, вважаю, що дисертація Нетроніної Ольги Володимирівни «Сіалові кислоти плазми та сіалованість лімфоцитів при хронічних лімфо- і мієлопроліферативних захворюваннях крові» відповідає вимогам п.п. 10, 13 постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. про «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння звання старшого наукового співробітника», що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Зав. кафедри біофізики та біохімії  
Дніпропетровського національного  
університету імені Олеся Гончара,  
док-р. біол. наук (03.00.04-біохімія), проф.

Г.О. Ушакова

*Відгук надіслано у спеціалізовану вчену раду*

*к 58.601.04 15.06.2016 року*

*Вченої секретар спеціалізованої  
вченої ради к 58.601.04.*

*доц. Врошенико Т. А.*

