

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Панамарева Никиты Сергеевича

«Биоломинесцентный иммуноанализ белка сурвивина в моче

при диагностике рака мочевого пузыря»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертационной работы.

Эффективность терапии при раке мочевого пузыря (РМП) и прогноз для пациента в значительной степени зависят от как можно более ранней диагностики этого онкозаболевания и, следовательно, своевременном назначении лечения. Однако, даже при своевременно выявленном заболевании на стадии немышечно-инвазивного РМП и проведении адекватной терапии требуется регулярный анализ состояния слизистой мочевого пузыря и мочевого канала. В настоящее время золотым стандартом является цитоскопия – визуальный осмотр с помощью эндоскопа; также проводят цитологический анализ выявленных в моче клеток на наличие атипических изменений. Первый подход является инвазивной и относительно дорогостоящей процедурой, а второй метод малоэффективен на ранних стадиях РМП.

Современной тенденцией в онкодиагностике является разработка методов определения онкомаркеров в физиологических жидкостях, собираемых малоинвазивными методами. В связи с вышесказанным, не вызывает сомнения актуальность диссертационной работы Панамарева Никиты Сергеевича, посвященной разработке биоломинесцентного иммуноанализа онкомаркера сурвивина в моче при РМП.

Научная новизна и практическая значимость работы.

В ходе диссертационной работы на первом этапе Никита Сергеевич получил рекомбинантный сурвивин человека и доказал его биоспецифичность, а также разработал специфичные биоломинесцентные репортеры на основе целентразин-зависимых люцифераз (обелин и NanoLuc) и рекомбинантного сурвивина. На следующем этапе на основе созданных репортерных молекул были разработаны

системы иммуноанализа сурвивина в моче и проанализированы их возможности. Определив специфичность и чувствительность разработанных систем иммуноанализа, соискатель провел исследование клинических образцов мочи с целью определения ассоциации концентрации сурвивина в образце и диагнозом РМП, а также клинико-морфологическими характеристиками опухоли. И, наконец, проведено исследование применимости разработанного метода иммуноанализа концентрации сурвивина на основе биоломинесцентной метки с NanoLuc в комбинации с выявлением второго онкомаркера – CYFRA 21-1 с помощью коммерческого ИФА набора производства АО «Вектор-Бест».

В результате проделанной работы были сконструированы новые биоспецифические репортерные молекулы и исследованы их свойства; разработан дизайн биоломинесцентного иммуноанализа сурвивина в моче. С использованием разработанной системы иммуноанализа показана ассоциация степени инвазии опухоли, степень ее дифференцировки, размер и прогноз рецидивирования с концентрацией сурвивина в моче при РМП. Также было показано, что одновременное выявление онкомаркеров сурвивина и CYFRA 21-1 в моче улучшает выявляемость РМП на ранних стадиях.

К практической значимости полученных результатов следует отнести собственно саму разработку высокопроизводительного способа выявления сурвивина для быстрой и неинвазивной диагностики РМП, все компоненты которой производятся/могут производиться в РФ. Также стоит отметить показанную перспективность использования разработанной системы биоломинесцентного иммуноанализа сурвивина в моче в комбинации с коммерческим диагностикумом «CYFRA 21-1-ИФА-БЕСТ».

Структура и общая характеристика диссертационной работы.

Диссертация Панамарева Н.С. имеет традиционную структуру и содержит следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение и Выводы. Текст диссертации изложен на 101 странице, включая список сокращений; он дополнен списком цитированной литературы, содержащим 137 источников.

Во Введении обоснована актуальность исследования; оно содержит все необходимые разделы, включая цели и задачи, степень разработанности темы

исследования, научную новизну и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, личный вклад соискателя, степень достоверности результатов и т.д.

Обзор литературы достаточно лаконичен, касаясь, тем не менее широкого круга вопросов, имеющих отношение к тематике конкретной диссертации. В Обзоре дана общая характеристика белка сурвивина, кратко описаны его функции в организме, а также подходы к его использованию в качестве маркера онкозаболеваний. Кроме того, Обзор содержит описание целентразин-зависимых биолюминесцентных систем люциферазного и фотопротеинового типов.

В главе Материалы и методы представлено четкое и последовательное описание достаточно широкого спектра использованных в работе методик, включая статистические методы обработки данных. Обращает внимание достаточно детальное описание методов получения штаммов-продуцентов и репортерных молекул.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из четырех основных частей, последовательно описывающих развитие экспериментальной работы соискателя. Ход исследований описан ясно и достаточно подробно, результаты хорошо проиллюстрированы. Важно отметить, что каждая из четырех частей сопровождается микровведением, а каждая главка - кратким обсуждением, в котором автор суммирует полученные в данном разделе результаты. На основе полученных результатов сформулированы четыре положения, выносимые на защиту. Личный вклад соискателя в получении и анализе результатов значителен.

В целом, диссертация Панамарева Н.С. является классической научно-квалификационной работой. Цель и задачи исследования выполнены. Выводы, сделанные на основе полученных результатов, как и положения, выносимые на защиту, обоснованы. **Достоверность данных диссертации** обеспечена использованием современных экспериментальных методов, использованием адекватных статистических методов анализа и достаточным объемом проанализированных с помощью разработанного способа выявления сурвивина клинических образцов.

Следует подчеркнуть, что результаты диссертации достаточно полно опубликованы – пять статей в рецензируемых российских и англоязычных изданиях,

в трех из которых Панамарев Н.С. является первым автором (все три индексируются в базе данных Scopus). По результатам работы получен Патент РФ. Также результаты работы были представлены на четырех конференциях. Текст автореферата полностью отражает ход исследования, полученные результаты и основные положения диссертации.

Вместе с тем к работе имеется ряд вопросов и замечаний:

1. Учитывая, что из использованных для составления Обзора литературы лишь 16% публикаций – это публикации последних пяти лет, насколько верно утверждение соискателя о том, что к настоящему времени все еще отсутствуют надежные малоинвазивные способы ранней диагностики РМП?
2. Стоит пояснить, почему соискатель сконцентрировался на разработке аналитической системы для анализа онкомаркера сурвивина в моче, а не в крови, хотя концентрация этого онкомаркера в крови на порядок выше.
3. В работе не обсуждена ассоциация результатов разработанных вариантов анализа (определение только сурвивина, а также определение сурвивина в комбинации с CYFRA 21-1) с гистологическим типом опухоли, хотя были проанализированы клинические образцы от пациентов как с уротелиальной карциномой, так и с другими типами, названными «атипическим» типом.

Следует отметить, что перечисленные замечания носят дискуссионный характер и не влияют ни на научную, ни на практическую значимость полученных соискателем результатов.

Диссертация Панамарева Никиты Сергеевича «Биоломинесцентный иммуноанализ белка сурвивина в моче при диагностике рака мочевого пузыря» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи направленной на разработку высокочувствительной системы иммуноанализа опухолевого маркера сурвивина в моче человека на основе биоломинесцентных репортёров, пригодной для ранней диагностики рака мочевого пузыря, что имеет существенное значение для развития биотехнологии в области медицинской диагностики. Представленная диссертация по актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований и практической значимости полностью

соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 №650, от 28.08.2017 №1024, от 01.10.2018 №1168, от 26.05.2020 №751, от 20.03.2021 №426, от 11.09.2021 №1539, от 26.09.2022 №1690, от 26.01.2023 №101, от 18.03.2023 №415, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Панамарев Н.С., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Официальный оппонент:

Тикунова Нина Викторовна,
доктор биологических наук (специальности 03.00.03 молекулярная биология и 03.00.06 вирусология), доцент, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук

630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Тел (383) 36 [redacted]; e-mail: [redacted].ru

[redacted] / Тикунова Н.В. /

Дата «25» сентября 2026 г.

Подпись Тикуновой Нины Викторовны заверяю.

Начальник отдела кадров ИХБФМ СО РАН [redacted] / Гашникова Ольга Михайловна

Дата «25» сентября 2026 г.

