

О Т З Ы В

официального оппонента,

доктора биологических наук, доцента Лавряшиной Марии Борисовны
на диссертационную работу Бакановой Марины Леонидовны
«Изучение молекулярно-генетических и цитогенетических факторов
риска развития аденокарциномы легкого», представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность исследования. Болезни онкологического профиля занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности населения практически во всех странах мира, находящихся на 3 и 4 стадиях эпидемиологического перехода. Это обуславливает пристальный интерес научного и медицинского сообщества к проблемам предикции, превентивности, своевременной диагностики и эффективной терапии онкопатологии. В данном ключе острота проблематики и актуальность темы диссертационной работы Бакановой М.Л. – изучение спектра генетических вариантов в генах, кодирующих ферменты биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ ErbB, теломеразной обратной транскриптазы, а также хромосомной нестабильности и длины теломер в клетках периферической крови у больных аденокарциномой легкого в условиях действия триггерных факторов среды – очевидна. Кроме того, благодаря продуманному алгоритму и примененным методологическим и методическим подходам проведенное диссертантом исследование не только актуально, но и безусловно соответствует современным мировым стандартам.

Аденокарцинома легкого – злокачественное новообразование, распространенное в структуре онкопатологии легкого. В связи с этим понятны и обоснованы особенности выборки группы «случай», которая была

сформирована и изучена в диссертационном исследовании Бакановой М.Л. Когортные исследования типа «случай – контроль» также требуют продуманного и взвешенного подхода при формировании группы сравнения. В настоящей диссертационной работе в качестве таковой послужила выборка, составленная из населения того же региона, что и больные аденокарциномой легкого. Это позволило Бакановой М.Л. свести к минимуму модулирующий эффект региональных средовых факторов. Кроме того, выборки были выровнены по возрасту и этнической принадлежности, а при интерпретации полученных результатов учитывались гендерные особенности и действие бытовых и производственных генотоксикантов. Полагаю, что все эти усилия позволили автору диссертационного исследования, как минимум, учесть либо исключить факторы способные исказить результаты эксперимента.

Необходимо отметить, что актуальным является не только проблемное поле, но и сам методологический и методический подход. Баканова М.Л. в своем исследовании не остановилась на констатации ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов, отобранных с помощью метода приоритизации генов в программе ANDSystem, для оценки подверженности аденокарциноме легкого, но с использованием методов математического моделирования оценила их соотносительный вклад с учетом эндогенных и экзогенных факторов. Это придает результатам исследования не только фундаментальность, но и перспективу использования в практике при определении путей диагностики и адекватной терапии данной онкопатологии.

Научная новизна результатов, полученных в диссертационном исследовании Бакановой Марины Леонидовны, определяется следующими положениями. Получены данные о частотах аллелей и генотипов полиморфных вариантов одиннадцати генов, относящихся к системам репарации ДНК (*hOGG1*, *PARP1*, *APEX1*, *XPB*), биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *GSTM1*, *GSTT1*), клеточного цикла и

апоптоза (*TP53*, *EGFR*, *TERT*) в группе больных аденокарциномой легкого, проживающих в Кемеровской области. Установлена ассоциация с развитием аденокарциномы легкого полиморфного варианта rs13181 гена *XPD* и определены значимые ген-средовые взаимодействия: с курением - для *XPD* (ERCC2) rs13181, *CYP1A1* rs4646903, *EGFR* rs2227984; с производственным стажем - для *XPD* (ERCC2) rs13181 и *CYP1A1* rs4646903. В работе выявлены генетические маркеры повышенного риска манифестации аденокарциномы легкого в зрелом возрасте – это *XPD* (ERCC2) rs13181; в пожилом возрасте – *GSTT1* (del); у мужчин – *XPD* (ERCC2) rs13181; у женщин – *CYP1A1* rs4646903; на поздних стадиях (III-IV) заболевания; у больных с метастазами – *XPD* (ERCC2) rs13181. В культуре лимфоцитов периферической крови больных аденокарциномой легкого обнаружено накопление повреждений хромосом выше фонового регионального уровня (повышена частота aberrаций хромосомного и хроматидного типов) и впервые зарегистрирован феномен *rogue cells* (клетки с множественными aberrациями хромосомного типа). Получены информативные модели межгенных взаимодействий: *XPD* (rs13181 T>G) - *EGFR* (rs2227984 A>T) - *TP53* (rs1042522 G>C); *CYP1A2* (rs762551 C>A) - *GSTM1*(del) - *GSTT1*(del). Определены относительные длины теломер в лейкоцитах периферической крови у жителей Сибирского региона, в том числе, больных аденокарциномой легкого.

Научно-практическая значимость. Результаты диссертационной работы Бакановой Марины Леонидовны расширяют, углубляют и систематизируют представления о молекулярно-генетических основах патогенеза аденокарциномы легкого. Вносят вклад в понимание механизмов предрасположенности к формированию хромосомных aberrаций у больных данной онкопатологией. Необходимо отметить, что результаты исследования Бакановой М.Л. уже внедрены в практическую деятельность ГБУЗ КО Кемеровского клинического консультативно-диагностического центра г. Кемерово (ГБУЗ КО КККДЦ) и ГБУЗ КО «Областного клинического

онкологического диспансера» (ГБУЗ КО ОКОД), что отражает их прикладную ценность и востребованность.

Структура работы. Диссертационная работа Бакановой М.Л. написана в классическом стиле, хорошим научным и литературным языком. Состоит из Введения, трех глав: Обзор литературы, Материалы и методы исследования, Результаты и обсуждение. В работе также содержатся такие разделы как: Заключение, Выводы, перспективы дальнейшей разработки темы, Практические рекомендации, Список литературы, Список сокращений и Приложение.

Обзор литературы логично структурирован. Основную часть, обобщающую современные данные о полиморфизме генов-кандидатов на ассоциацию с подверженностью онкологическим заболеваниям, предваряет общая характеристика аденокарциномы легкого, в которой приводятся эпидемиологические данные в отношении рака легкого, с учетом классификационной типологии, этнической, гендерной компоненты, вредных привычек, а также генотоксикантов производственной и бытовой среды. В этом же разделе кратко, но емко обсуждаются современные представления о мутациях-драйверах в ключевых онкогенах при разных вариантах рака легкого и аденокарциномы. Далее Баканова М.Л. анализирует актуальные данные о генах систем репарации ДНК, метаболизма ксенобиотиков, контроля клеточного цикла и апоптоза. Как свидетельствуют данные приведенные автором диссертации, полиморфизм, выявленный в этих генах в определенных условиях может обуславливать подверженность развитию онкологических заболеваний. Завершается обзор литературы данными о роли хромосомных aberrаций в процессах инициации канцерогенеза и межиндивидуальных различиях в длине теломер как предикторе риска канцерогенеза. Обзор литературы приведен на 28 страницах, что составляет 0,1 объема диссертации. Некоторый «перекосяк» в сторону преобладания фактического материала – это реальность всех современных публикаций в области молекулярной и клеточной биологии, когда опубликованный

материал сопровождается многократно превосходящим его по объему приложением.

В главе «Материалы и методы исследования» с исчерпывающей полнотой приводится описание объекта и методов исследования: дается характеристика обследованных групп, включающих пациентов с диагнозом аденокарцинома легкого (304 чел.) и группу сравнения (366 чел.). Обе выборки сформированы из лиц, проживающих на территории Кемеровской области. Далее подробно описываются методы цитогенетического анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови, методы выделения ДНК и генотипирования полиморфных локусов генов, методы определения длины теломерных повторов. Охарактеризованы методы математического анализа.

В главе «Результаты и обсуждение» Баканова М.Л. поэтапно, согласно логике работы, приводит и обсуждает полученные в ходе выполнения диссертационного исследования результаты. На первом этапе исследования при помощи программы ANDSystem автором была проведена приоритизация генов, вовлеченных в формирование риска развития аденокарциномы легкого. Данные для исследования, аннотированные как АКЛ, были отобраны из базы данных «LUNG CANCER EXPLORER» (<http://qbrc.swmed.edu/lce/>). В результате этого этапа получена генная сеть, включающая гены, белки и их взаимодействия. Именно на основе этих данных диссертантом был определен комплекс генов для дальнейшего изучения. Далее в группах «случай – контроль» был выполнен анализ полиморфных локусов генов ферментов репарации ДНК, биотрансформации ксенобиотиков, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ ErbB, теломеразной обратной транскриптазы. На следующем этапе методом Multifactor Dimensionality Reduction (MDR), было проведено определение комбинаций генных локусов, которые представляют наибольшую патогенетическую значимость для развития АКЛ и алгоритмом всестороннего поиска (Exhaustive search algorithm) оценены все возможные сочетания между генами, что позволило в результате выявить статистически

значимые модели. Дальнейший анализ включал исследование частоты и спектра хромосомных aberrаций в обследованных выборках, в том числе с учетом ассоциаций с исследованной панелью генов и межгенных взаимодействий. Завершает исследование обсуждение результатов анализа относительной длины теломер в лимфоцитах крови больных аденокарциномой легкого и группы сравнения.

В разделе «Заключение» Баканова М.Л. подытоживает и дает краткую интерпретацию основным результатам диссертационной работы, а также, что позитивно, намечает возможные дальнейшие пути продолжения исследований, указывая, что в ряде случаев для выяснения глубинных механизмов, лежащих в основе полученных в диссертации данных необходимы дополнительные исследования. Тем не менее, выводы, сформулированные в диссертации, в полном объеме раскрывают заявленную в работе цель и позволяют утверждать, что задачи, которые Марина Леонидовна поставила перед собой – полностью решены.

Материал диссертации изложен на 249 страницах. Список цитированной литературы включает 488 источников, из них 461 иностранных и 17 отечественных. Работа отлично иллюстрирована цифровыми и графическими материалами, содержит 17 таблиц и 33 рисунка.

Достоверность результатов исследования. Убедительность, достоверность и обоснованность выводов диссертации обеспечивается четкой продуманностью дизайна исследования, репрезентативностью выборок, применением адекватного математического аппарата, хорошо зарекомендовавшего себя в исследованиях подобного плана. Работа отличается тщательностью и корректностью использованной методологии и методик исследования, корректной интерпретацией результатов исследования, проработанностью полученных выводов, полностью отвечающих цели и задачам исследования.

Апробация. Материалы диссертационной работы доложены на 20 научных форумах (научных сессиях, конференциях, съездах). По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, входящих в перечень ВАК, в том числе, 5 – в журналах, индексируемых в базах Web of Science или Scopus.

Замечания. Отмечая безусловную научную и практическую ценность работы, можно сделать некоторые замечания, касающиеся в основном оформления работы. Так, например, наблюдается определенный «разнобой» в названии группы сравнения – это то «здоровые жители», то «группа сравнения», то «контрольная группа», то «опытная группа», то «здоровые доноры». Такой «разнобой» затрудняет восприятие диссертационных данных, так как возникает ощущение, что в работе исследуются не две выборки и несколько. Есть и чисто технические огрехи – у рисунка 2 «съехало» название, а на стр. 40 во фразе «измерение длины теломер в лейкоцитах...» нарушена согласованность падежей. Хотя, справедливости ради, отмечу, что в целом диссертация оформлена достаточно аккуратно и написана хорошим литературным языком.

Вопросы. В процессе ознакомления с диссертационной работой Бакановой М.Л. возникло несколько вопросов.

1. В работе автор диссертации проводит исследование в группах «случай – контроль» частоты и спектра хромосомных aberrаций с одной стороны и относительной длины теломер в лимфоцитах крови с другой. Однако в результатах исследования нет данных анализа взаимосвязи этих параметров друг с другом. В связи с этим вопрос: исследовалась ли частота и спектр хромосомных aberrаций в зависимости от длин теломер? И если нет, то почему этот аспект не был включен в план исследований?
2. В списке литературы из 488 источников только 17 отечественных. Неужели в России исследования подобного плана не проводятся?

Заключение. Диссертационная работа Бакановой Марины Леонидовны «Изучение молекулярно-генетических и цитогенетических факторов риска развития аденокарциномы легкого», выполненная под руководством доктора биологических наук Мининой Варвары Ивановны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи, имеющей важное значение для молекулярной биологии и генетики – исследование молекулярных механизмов этиологии, патогенеза и поиска предикторов онкопатологии, в данном конкретном случае – аденокарциномы легкого у европеоидного населения сибирского промышленного региона.

Диссертационная работа соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 г. № 842 (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г.), а ее автор Баканова Марина Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент

доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры микробиологии,
иммунологии и вирусологии
ФГБОУ ВО «Кемеровский
государственный
университет»
28.11.2020



Лавряшина
Мария Борисовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет», 650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а, (3842) 580166, lmb2001@mail.ru

Подпись заверяю:

