

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Института биохимии и генетики -
обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии
наук



д.б.н., проф. член-корр. РАО
Э. К. Хуснутдинова
«25» ноября 2020 г.

ОТЗЫВ

**ведущей организации о научно-практической значимости
диссертационной работы Бакановой Марины Леонидовны на тему:
«Изучение молекулярно-генетических и цитогенетических факторов
риска развития аденокарциномы легкого», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.02.07 – генетика**

Актуальность темы исследования

Высокая актуальность темы бесспорна и обусловлена тем, что рак легкого занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности. Также она определена низкой воспроизводимостью результатов в области молекулярно-генетических исследований онкологических заболеваний, в том числе рака легкого, что может быть связано с чрезвычайной вариабельностью раковых опухолей, многообразием действующих факторов среды, расовыми и этническими особенностями, с генетической гетерогенностью популяций, с особенностями ген-генных и ген-средовых взаимодействий. Гетерогенность рака легкого, требует индивидуального подхода в его исследованиях. Одним из его основных гистологических типов является аденокарцинома легкого. К настоящему времени накоплен большой объем информации по опухолевым маркерам аденокарциномы легкого,

многие из которых уже являются частью диагностического и терапевтического обследования пациентов, особенности же нетрансформированных клеток онкологических больных изучены слабо.

В этом плане актуальность диссертационного исследования Бакановой Марины Леонидовны, которое ставит цель 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, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

В ходе проведенного диссертационного исследования получены новые данные, имеющие как фундаментальное значение, так и практическую значимость. Получены данные о частотах аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов, кодирующих ферменты биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ ErbB, теломеразной обратной транскриптазы в этнической группе русских больных аденокарциномой легкого, проживающих в Кемеровской области. Установлена ассоциация полиморфного варианта гена *XPD (ERCC2) rs13181* с развитием аденокарциномы легкого. Определены значимые ген-средовые взаимодействия. Выявлены генетические маркеры повышенного риска манифестации аденокарциномы легкого в зрелом возрасте, у мужчин, у женщин, на поздних стадиях (III-IV) заболевания, у больных с метастазами.

В культуре лимфоцитов периферической крови больных аденокарциномой легкого было обнаружено накопление повреждений хромосом выше фонового регионального уровня (повышена частота

аббераций хромосомного и хроматидного типов) и впервые зарегистрирован феномен *rogue cells* (клетки с множественными абберациями хромосомного типа). Проведен анализ роли межгенных взаимодействий при формировании наследственной предрасположенности к аденокарциноме легкого и формировании высокого уровня хромосомных аббераций. Произведено определение относительной длины теломер в лейкоцитах периферической крови у жителей Западной Сибири, больных аденокарциномой легкого.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 249 страницах машинописного текста, построена по традиционной схеме и состоит из введения, трех глав («Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение»), заключения, выводов, перспективов дальнейшей разработки темы, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа содержит 17 таблиц, 33 рисунка и приложения.

Для обоснования актуальности исследования, обзора литературы по выбранной теме диссертационной работы и обсуждения полученных результатов, автором привлечены публикации отечественных (24 работы) и зарубежных (461 работа) исследователей. В рамках темы диссертации проанализированы библиографические источники до 2020 года.

Во **введении** обосновывается актуальность исследования; приводятся данные о степени разработанности проблемы; формулируются цель и 6 задач исследования; ее научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; отражены методология и методы исследования; сформулированы положения, выносимые на защиту; обосновывается достоверность исследования, приводится информация об апробации результатов и личном участии автора; о соответствии диссертации паспорту научной специальности; о структуре и объеме работы. Научные результаты своего диссертационного исследования Баканова Марина Леонидовна активно

выносила на обсуждение научной общественности, в том числе в виде докладов (тезисов) на отечественных и зарубежных конференциях и публикациях.

Глава **«Обзор литературы»** написана грамотным литературным языком, освещены все аспекты по тематике исследования: приводится информация о факторах риска, патогенезе и классификации рака легкого; рассматриваются результаты молекулярно-генетических исследований, использующих различные подходы для поиска генетических и эпигенетических изменений, вовлеченных в процесс канцерогенеза. Необходимо отметить, что автор провел значительную аналитическую работу с большим числом публикаций, которые включены в список цитированной литературы, включая работы последних лет. Обзор литературы непосредственно связан с предметом исследований и в нем достаточно полно отражены современные тенденции в решении данной проблемы. В целом обзор литературы является хорошим обоснованием актуальности изучения генетических основ аденокарциномы легкого.

Вторая глава **«Материалы и методы»** представлена 4 разделами, в которых приводится информация об исследованных выборках, использованных экспериментальных, статистических методах и дизайн исследования. В исследование включены 304 пациента с аденокарциномой легкого и 366 здоровых неродственных доноров, подобранных по принципу «случай-контроль» с учетом возраста, пола, этнической принадлежности. Цитогенетический анализ хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови выполнен у 152 больных аденокарциномой легкого и 260 здоровых доноров. У 52 испытуемых был проведен анализ длины теломерных повторов. Проведение исследования одобрено биоэтическим комитетом этическим комитетом Института экологии человека СО РАН. Всеми испытуемыми подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Экспериментальные исследования были выполнены с применением классических и современных молекулярно-генетических

методов (фенольно-хлороформная экстракция ДНК, полимеразная цепная реакция, рестрикционный анализ, электрофорез ДНК, метод дискриминации аллелей TaqMan, аллель-специфичная ПЦР), статистическая обработка данных проведена корректно.

Третья глава «**Результаты и обсуждение**» состоит из 6 разделов. В работе можно выделить четыре основных направления: 1) Поиск генетических маркеров риска развития аденокарциномы легкого на основе анализа полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ ErbB, теломеразной обратной транскриптазы; 2) Сопоставление уровня и спектра хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови у больных аденокарциномой легкого и здоровых жителей, а также анализ ассоциаций исследованных генов-кандидатов с хромосомными aberrациями в клетках крови в изученных группах; 3) Анализ роли межгенных взаимодействий при формировании наследственной предрасположенности к аденокарциноме легкого и формированию высокого уровня хромосомных aberrаций; 4) Определение относительной длины теломер в лейкоцитах периферической крови у больных аденокарциномой легкого. Ассоциативный анализ полиморфных локусов с риском развития заболевания проводился по ряду признаков. Сравнение групп больных и контроля велось не только с учетом статуса курения, гендерной принадлежности, возраста манифестации заболевания, но и относительно клинических особенностей заболевания, таких как стадия развития аденокарциномы легкого, локализация опухоли, метастазирование. В работе использован обширный арсенал классических и современных методов, что свидетельствует о профессионализме автора, определяющем уровень работы и достоверность полученных результатов. Структура работы и объем проведенных исследований соответствуют цели и поставленным задачам. Результаты исследования изложены подробно и иллюстрированы таблицами и рисунками. Обсуждение полученных

результатов включает обобщение и сопоставление собственных результатов с аналогичными данными других авторов, полученных в различных популяциях мира. В целом, из материалов главы 3 можно сделать вывод, что результаты исследований позволили решить задачи, которые были исходно поставлены в диссертации.

Основные итоги диссертационного исследования суммированы автором в разделе «**Заключение**». **Выводы** четко сформулированы, соответствуют цели и задачам исследования и полностью отражают полученные результаты.

В **Приложении** представлены развернутые табличные данные частот аллелей и генотипов изученных ДНК-локусов в многочисленных выборках, сформированных для проведения генетического анализа на всех этапах исследования.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Работа выполнена на достаточном научно-методическом уровне и на большом клиническом материале (304 пациента и 366 доноров Кемеровского областного центра крови, которые составили контрольную группу) с использованием современных методов сбора и обработки информации, адекватных поставленным задачам. Результаты диссертационной работы документированы полноценным количеством рисунков и таблиц, что облегчает восприятие материала. Выводы и практические рекомендации аргументированы, закономерно вытекают из представленного материала, отражают содержание диссертации и полностью соответствуют поставленным задачам. Основные положения исследования доложены на Всероссийских и региональных конференциях и конгрессах. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ в журналах, входящих в список ВАК Минобрнауки РФ, из которых 5 статей — в журналах, индексируемых в базах Web of Science или Scopus. Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные результаты проведенного исследования позволяют оптимизировать формирование групп риска аденокарциномы легкого с учетом курения, возраста, воздействия производственных токсикантов, полового диморфизма и полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ EgrB, теломеразной обратной транскриптазы; определять индивидуальный канцерогенный риск путем оценки спонтанного уровня хромосомных aberrаций и измерения длины теломерных повторов в лимфоцитах крови; устанавливать специфичность наследственной предрасположенности к накоплению повреждений хромосом у больных аденокарциномой легкого.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Научно-практические результаты диссертационной работы могут служить основой методических рекомендаций и пособий, направленных на решение вопросов генетической предрасположенности к развитию широко распространенного заболевания – аденокарцинома легкого. Кроме того, полученные автором результаты и выводы могут быть использованы при чтении спецкурсов по подготовке специалистов в области генетики человека, медицинской генетики, онкогенетики и других специальностей. Работа в целом производит хорошее впечатление, текст диссертации грамотно и ясно изложен, анализ и описание результатов подробные, формулировки четкие, разделы логично дополняют друг друга, результаты исследования имеют важное теоретическое и практическое значение для медицинской генетики, онкогенетики и смежных областей.

В то же время к рассматриваемой работе можно высказать несколько незначительных замечаний и пожеланий.

1. В главе 2.1. Диссертант использует некорректное высказывание "принадлежность к этнической группе европеоидов". Европеоиды - это не этническая группа.

2. В таблице 7 представлены праймеры для постановки аллель-специфичной ПЦР для пяти локусов, но исходя из представленного материала, не понятно как проводилась аллель специфичная ПЦР, не указана длина фрагмента и т.д. Также возникает вопрос почему не использовали внутренний контроль, что необходимо делать при проведении аллель специфичной ПЦР.

3. Рисунок 3 демонстрирует результаты определения аллелей полиморфного локуса XPD (2251 T>G), на котором допущена ошибка. Также наличие аллелей разной длины с разницей в 40 пн не может получиться с использованием только двух праймеров для аллель-специфичной ПЦР, представленных в таблице 7.

4. Фраза в главе 3.2 "Для гена *hOGG1* (*rs1052133 C>G*) было выявлено отклонение распределений генотипов от равновесия Харди-Вайнберга, и в дальнейшем из анализа данный локус был исключен" вносит некоторую путаницу, поскольку при дальнейшем описании результатов, диссертант анализирует частоты аллелей и генотипов этого локуса.

4. Ссылаясь на работу Wu et al., 2014, в которой был проведен мета-анализ данных, диссертант говорит о гомозиготной модели и выявленной ассоциации рака легкого с полиморфным локусом *rs13181 T>G*, хотя известны аддитивная, доминантная, сверхдоминантная, рецессивная и лог-аддитивная модели. О чем идет речь?

5. В тексте встречаются такие фразы "распределение полиморфизма гена *XPD Lys751Gln* у больных АКЛ..." , лучше говорить о распределении частот аллелей или генотипов определенного полиморфного локуса в той или иной группе.

6. Раздел «ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ» "Для раннего прогнозирования риска развития аденокарциномы легкого рекомендуется проводить молекулярно-генетический анализ полиморфных локусов", любые рекомендации, основанные на анализе небольшого числа полиморфных локусов при многофакторных заболеваниях нужно выносить с большой

осторожностью, либо делать акцент на учете других факторов риска и построении прогностических моделей.

Следует отметить, что высказанные замечания носят технический характер, являются скорее пожеланиями и не снижают общей высокой оценки рассматриваемой диссертации.

Заключение.

Диссертационная работа Бакановой Марины Леонидовны «Изучение молекулярно-генетических и цитогенетических факторов риска развития аденокарциномы легкого», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи и ценные научно-практические сведения, имеющие важное значение для медицинской генетики и онкогенетики.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Бакановой Марины Леонидовны полностью соответствует требованиям п. 9-11, 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Баканова Марина Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Бакановой Марины Леонидовны «Изучение молекулярно - генетических и

цитогенетических факторов риска развития аденокарциномы легкого», заслушан, обсужден и одобрен на заседании Ученого совета Института биохимии и генетики - обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, протокол №8 от «25» ноября 2020 года.

И.о.заведующий лабораторией физиологической генетики
ИБГ УФИЦ РАН
доктор биологических наук по специальности
03.02.07 – генетика, доцент
Корытина Гульназ Фаритовна
25.11.2020



С.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека
ИБГ УФИЦ РАН
кандидат биологических наук по специальности
03.02.07 – генетика
Бермишева Марина Алексеева

25.11.2020



Подписи и.о. заведующей лабораторией физиологической генетики
ИБГ УФИЦ РАН, доктора биологических наук, доцента Корытиной Г.Ф.
С.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека
ИБГ УФИЦ РАН, кандидат биологических наук Бермишевой М.А.

заверяю
Ученый секретарь ИБГ УФИЦ РАН
Д.б.н Гималов Фуат Рамазанович

25.11.2020



Сведения о составителях отзыва:

Корытина Гульназ Фаритовна, доктор биологических наук, 03.02.07 – генетика, биологические науки, доцент по специальности 03.02.07 –генетика, и.о.зав. лабораторией физиологической генетики, e-mail: guly_kory@mail.ru, т. 83472356088

Бермишева Марина Алексеевна, кандидат биологических наук 03.02.07 – генетика, биологические науки, снс лаборатории молекулярной генетики человека, e-mail: marina_berm@mail.ru, т. 83472356088

Сведения об организации

Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 71, тел./факс: +7 347 235-60-88, e-mail: molgen@anrb.ru

заверяю

Ученый секретарь ИБГ УФИЦ РАН
Д.б.н Гималов Фуат Рамазанович

