

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Сергеевой Ольги Николаевны «**Изменение экспрессии микроРНК и их генов-мишеней, связанных с ангиогенезом в органах-мишенях метастазирования меланомы на преметастатическом этапе**», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация посвящена актуальной проблеме на стыке теоретической и клинической медицины – установлению молекулярных механизмов метастазирования опухолевых клеток. Метастазирование – одна из важнейших черт биологического поведения злокачественных опухолей, обуславливающая тяжелое, часто фатальное течение заболевания. Именно метастазирование, наряду с инвазией и способностью клеток выживать в непривычном микроокружении, определяет особенность опухолей среди других заболеваний.

Меланома кожи – высоко злокачественная опухоль, неблагоприятное клиническое поведение которой во многом определяется способностью к раннему метастазированию. Многолетние клинические наблюдения позволяют считать установленными пути метастазирования меланомы и локализацию вторичных отсеков. Однако неизвестно, можно ли предсказать метастазирование меланомы; нет сведений о молекулярном “обмене” между первичной опухолью и метастатическим очагом.

Автором поставлена важная проблема: метастазирование рассматривается как активный процесс, регулируемый и первичной опухолью, и организмом. Эта регуляция различна на преметастатическом этапе и на поздних стадиях. О.Н.Сергеева предприняла попытку установить механизмы регуляции метастазирования в преметастатических нишах на модели экспериментальной меланомы у мышей. В качестве регуляторных молекул выбраны микроРНК – на основании данных литературы именно этой регуляции экспрессии генов придается существенное значение в определении результата злокачественного процесса. В качестве мишеней указанной регуляции исследованы гены, кодирующие белки ангиогенеза.

Основное содержание работы – исследование регуляции экспрессии ряда генов ангиогенеза в преметастатических нишах на модели меланомы у мышей.

Цель исследования:

Установить изменения уровней экспрессии группы опухоль-ассоциированных микроРНК (онко-микроРНК) в органах-мишенях метастазирования меланомы на преметастатическом этапе, определить

сигнальные пути, регулируемые данными микроРНК, и характер изменения экспрессии генов-мишеней данных микроРНК.

Задачи исследования:

1. Оценить уровни экспрессии онко-микроРНК miR-155-5p, let-7b-5p, miR-205-5p и miR-21a-5p в органах-мишенях метастазирования меланомы на преметастатическом этапе;
2. Провести биоинформатический анализ с целью выявления сигнальных путей и генов, регулируемых исследуемыми микроРНК;
3. Оценить уровень экспрессии генов-мишеней miR-155-5p: *SCG2*, *NFE2L2*, и miR-205-5p: *SEMA5A*, *VEGFA* в органах-мишенях меланомы на преметастатическом этапе;
4. Определить выраженность ангиогенеза, пролиферации клеток в органах-мишенях меланомы на преметастатическом этапе.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 101 странице машинописи (формат А4) и состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», заключения, практических рекомендаций и выводов. Работа содержит 22 рисунка и 2 таблицы. Библиографический материал включает ссылки на 197 источников литературы.

Во Введении представлена актуальность проблемы для теоретической и клинической медицины, а также основные положения, выносимые на защиту. Определены научная новизна и практическая значимость исследования, достоверность результатов, приведены сведения о внедрении результатов в практику преподавания и публикациях, указан личный вклад автора. Раздел удачно излагает эти обобщающие сведения кратко и полно.

Глава I. Обзор литературы отлично структурирован, содержит большой (но не чрезмерный) объем современной информации о механизмах регуляции метастазирования. Автор исследует отдельные стадии этого процесса на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. Традиционно регуляцию метастазирования изучают в самих опухолевых клетках. Оригинальность авторской позиции состоит в исследовании (пре)метастатических ниш – мест в организме, в которые наиболее часто метастазируют опухоли. Почему именно в эти места? Каковы биологические особенности преметастатических ниш и может ли опухоль “управлять” дистальными очагами – подготавливать их к заселению клетками? Именно такой подход определяет своеобразие диссертационного исследования.

Интересны сведения о путях передачи внутриклеточных сигналов. В этих разделах проанализирован подробный современный материал. Особенно важны сведения о микроокружении опухолевых клеток; для меланомы таковыми

являются фибробласты кожи. Согласно новым представлениям, микроокружение может стимулировать или ограничивать опухоль; результат определяется сигнальными молекулами и их рецепторами на поверхности «партнерствующих» клеток. (Нео)ангиогенез здесь имеет важнейшее значение, поэтому О.Н.Сергеева детально разбирает молекулярные механизмы формирования сосудов в преметастатических нишах. Наряду с неэпителиальными (адипоциты, нейроэндокринные) клетками нормальное микроокружение оказывает существенное влияние на участок будущей колонизации опухолевыми клетками.

Обзор литературы формирует представление о дистанционной регуляции преметастатической ниши первичной опухоли. О.Н.Сергеева выступает как сложившийся исследователь, способный поставить научную задачу, обосновать ее важность и сформулировать стратегию работы.

Обзор литературы написан как самостоятельный раздел, заслуживающий публикации как полновесное, многостороннее современное исследование. Отдельные спорные формулировки подлежат редактированию.

Глава II. «Материалы и методы исследования»

В этой главе приведены детальные описания дизайна исследования и отдельных экспериментальных и статистических методов. В целом методический уровень работы высокий, современный. Методы статистической обработки результатов адекватны. В этом разделе диссертации автор также демонстрирует высокий профессионализм и хорошую научную школу.

Вместе с тем, было бы целесообразным подтвердить хотя бы наиболее важные находки в ПЦР данными белкового анализа – иммуноблоттингом. Не исключено, что регуляция экспрессии того или иного гена и кодируемого им белка имеют особенности, и не всегда высокий сигнал в ПЦР означает высокий уровень белка.

В последующих разделах представлены результаты собственных исследований и их анализ.

Главный результат диссертации – выявление дифференциальной регуляции генов ангиогенеза в преметастатических нишах на модели экспериментальной меланомы кожи. Представлена схема экспериментов: получение первичной опухоли кожи после прививки клеток линии В16, исследование образцов тканей легкого и печени (органы-мишени метастазирования меланомы). Результаты представлены как столбчатые диаграммы уровней соответствующих ПЦР-продуктов. Затем проведен биоинформатический анализ путей передачи сигналов на основании результатов измерения экспрессии микроРНК. Сравнена экспрессия отдельных генов в первичной опухоли, преметастатических органах и при

метастазировании. Это позволяет проследить динамику отдельных показателей до выявления метастазов. Экспериментальный раздел хорошо продуман, правильно использованы контроли.

Интересен раздел «**Обсуждение полученных результатов**». Автор демонстрирует хорошее знание литературы и умение выстраивать связи механизмов, что важно для патофизиолога. Вместе с тем, на настоящем этапе затруднительно установить сколько-нибудь точный механизм дифференциальной регуляции экспрессии генов в органах при метастазировании. Регуляция эта сложна; приведенные автором сведения дают возможность планировать новые эксперименты. Что может предложить автор для прямого установления механизма регуляции отдельного гена?

Выводы сформулированы четко, достоверны, логично и обоснованно вытекают из результатов исследования, соответствуют поставленным задачам.

Список литературы отражает разносторонность подхода автора, весьма полон и содержит источники последних лет.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 4 статьи, из которых 3 статьи – в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов исследований работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Публикации отражают основные положения диссертационной работы.

В разделе «**Практические рекомендации**» (стр. 79) указано:

Модуляция уровней микроРНК (let-7b-5p, miR-155-5p, miR21a-5p, miR-205-5p), в легких и печени может быть использована для изменения характера метастазирования.

Было бы целесообразно получить разъяснения, как действовать врачу, имея на руках результаты экспрессии указанных микроРНК.

В целом, О.Н. Сергеева выполнила современное исследование в патологической физиологии на стыке с онкологией. Ценность и новизна полученных диссертантом результатов состоит в установлении механизмов (в перспективе – возможности терапевтической регуляции) метастазирования высоко злокачественной опухоли.

В диссертации установлены важные и оригинальные научные закономерности. Уровень диссертационной работы высокий; не вызывает сомнений значимость диссертации как современного высококвалифицированного исследования актуальной научной проблемы с практическими перспективами.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа О.Н. Сергеевой «Изменение экспрессии микроРНК и их генов-мишеней, связанных с ангиогенезом в органах-мишенях метастазирования меланомы на преметастатическом этапе» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Рукша Татьяны Геннадьевны, содержащей новое решение актуальной научной задачи – углубление знаний о роли микроРНК и их генов-мишеней в формировании преметастатических ниш, имеющей существенное значение для патологической физиологии и онкологии.

Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (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 Сергеева О.Н. заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03–патологическая физиология.

Официальный оппонент:

заведующий лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук

Специальность: 14.00.14. – «онкология».

Штиль Александр Альбертович

3 сентября 2021 г.

Подпись А.А.Штиля заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина"

Минздрава России

кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, лаборатория механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза.

115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,

Тел.: +7-499-612-78-34; e-mail: shtilaa@yahoo.com