

ВІДЗИВ

**офіційного опонента на дисертацію Геращенко Ганни Володимирівни
«Генетичні, епігенетичні та експресійні порушення у низці епітелійних
пухлин» за спеціальностями 03.00.03 – «Молекулярна біологія»,
03.00.22 «Молекулярна генетика»**

Актуальність теми дисертаційної роботи Ганни Володимирівни повністю підтверджується важливим медико-соціальним значенням епітелійних пухлин, а це, як відомо більшості пухлинних захворювань, що спричинюють інвалідизацію та смертність тисяч людей у світі щодня. Роль генетичних та епігенетичних факторів в етіології раку є безсумнівним, але фактичне наповнення цієї тези є недостатнім – які саме гени, у якій комбінації збільшують ймовірність захворювання, які епігенетичні зміни спричинюють трансформацію, промоцію та прогресію пухлин? У зв'язку з цим вивченню молекулярно-генетичних механізмів пухлинного росту присвячено десятки тисяч робіт в усьому світі. Як знайти свою нішу в цьому вирі наукових подій? Увагу дослідниці привернули хромосомні перебудови, делеції, ампліфікації хромосом, локусів хромосом та генів, тисячі соматичних мутацій у генах, гіперметиловання та гіпометиловання промоторів генів, модифікації гістонів та зміна профілів експресії некодуючих РНК. У фокус дисертаційної роботи не випадково попала 3-я хромосома людини, бо саме вона є однією з найбільш широко досліджуваних за різних видах раку. Завдяки методам каріотипування, аналізу втрати алелей, методам порівняльної гібридизації ДНК встановлено втрату частин 3-ої хромосоми людини у низці спорадичних злоякісних пухлин. У попередніх роботах наукового керівника ідентифіковано потенційні гени-супресори росту пухлин після успішного фізичного картування 3-ої хромосоми людини за допомогою технології NotI-пов'язаних та стрибаючих клонів.

Складність механізмів канцерогенезу, на слухну думку науковиці, унеможливує пошук однієї мішені для терапії та одного біомаркера для

діагностики раку і ініціює встановлення індивідуальних молекулярних особливостей пухлин (генетичних, епігенетичних, експресійних) у певного пацієнта. Безумовно, це є найбільш перспективним для розробки нових методів діагностики й прогнозування, пошуку індивідуального ефективного лікування, що є основою персоніфікованої медицини та реальною задачею, яка відповідає сучасному рівневі розвитку молекулярної біології та генетики.

Наукова новизна отриманих результатів. В роботі виявлено генетичні та епігенетичні зміни локусів 3-ої хромосоми людини у пухлинах епітелійного походження, а саме раку яєчника, кишечника, передміхурової та молочної залози. Проведено порівняльний аналіз змін пухлино-асоційованих генів та потенційних генів супресорів росту пухлин в зразках епітелійних пухлин різного походження та проведено підбір панелей потенційних біомаркерів для діагностики епітелійних новоутворень. У досліджах *in vitro* та *in vivo* вперше доведена пухлино-супресивна роль гена SEMA3B у канцерогенезі пухлин епітелійного походження. Вперше виявлено молекулярні характеристики зразків пухлин та профілі експресії як простато-специфічних генів, так і генів-маркерів стромальних елементів раку передміхурової залози. Вперше встановлено молекулярні підтипи раку передміхурової залози, що мають різні активовані онкогенні шляхи та інактивовані гени-супресори. Модифіковано алгоритм для розробки експресійних наборів онкомаркерів та проаналізовано можливу чутливість до таргетної терапії низки генів-мішеней пухлин передміхурової залози на основі змін відносної експресії генів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Отримані наукові положення і висновки обґрунтовані достатнім обсягом молекулярно-генетичних досліджень на клінічному матеріалі. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів. Робота виконана на сучасному методичному рівні:

досліди проводили проведено на клінічному матеріалі та клітинних лініях із застосування десятків сучасних методів молекулярно-генетичного аналізу. Достатній об'єм проаналізованого матеріалу та ретельний статистичний аналіз дозволили вирішити поставлені задачі, зробити логічні висновки, що витікають із проведеного дослідження.

Практичне значення одержаних результатів очевидно, бо вже десятки людей отримали результати генетичного та епігенетичного аналізу, які клініцисти могли використати для індивідуалізації лікування та оцінки прогнозу захворювання. Розроблені алгоритми дозволять у подальшому застосовувати отримані результати для більш точної діагностики та персоналізованої терапії онкологічних захворювань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, цільового тематичного конкурсу Ф46 ДФФД науково-навчального центру «Державна ключова лабораторія молекулярної та клітинної біології», гранту Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації та ще багатьох наукових програм.

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота викладена на 503 сторінках (основна частина – 310 стор.), складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота проілюстрована 78 рисунками, результати містяться у 79 таблицях. Перелік використаної літератури включає 951 джерело.

Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальною інформацією про генетичні та епігенетичні механізми канцерогенезу. Спеціальну увагу приділено 3-й хромосомі людини в канцерогенезі, метаболічному перепрограмування ракових клітин, епітелійно-мезенхімному переходу у прогресії та

метастазуванні, сучасним підходам до пошуку молекулярних аберацій при канцерогенезі та виявленню біомаркерів для діагностики та мішеней для таргетної терапії епітелійних пухлин

У розділі «Матеріали та методи» описано методи виділення ДНК, РНК, генетичного скринінгу та інших молекулярно-генетичних методик. Для встановлення статистичної значущості використано сучасні підходи аналізу даних: тести Колмогорова-Смірнова та Ліллієфорса, парний тест Вілкоксона, точний тест Фішера, процедура Бенжаміні-Хохбера, тести Краскела-Уолліса, Дана-Бонферроні та інші.

У розділі „Результати досліджень” наведено результати генетичного дослідження та аналізу клінічних даних з огляду індивідуальний генотип та епігенотип кожного хворого.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» дозволяє автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та зробити логічні висновки, що безпосередньо впливають із результатів роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та у авторефераті. Наукові положення дисертаційної роботи зроблені ним висновки та рекомендації, що чітко сформульовані в дисертації, досить повно відображені в опублікованих 39 наукових працях, із яких 28 статей, що опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та 11 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових з'їздів та конференцій. Основні положення дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

ЗАУВАЖЕННЯ.

1. Перший висновок дисертаційного дослідження не відрізняється новизною, бо роль порушень в 3-й хромосомі було встановлено раніше у десятках наукових робіт. Зрозуміло, що автор отримала більш детальну інформацію про стан цієї хромосоми, але висновок не дає можливості це оцінити.

2. У висновках лише в одному пункті йдеться про пухлино-супресорну функцію гена SEMA3B, хоча це становить найбільшу новизну дослідження, має міжнародний пріоритет і дизайн цієї частини роботи вирізняються логічним, патофізіологічним дизайном. На жаль, маса інших скринінгових даних затьмарює цю прекрасну частину роботи.

3. Малоімовірно, що запропоновані автором діагностичні панелі для виявлення та розрізнення за стадіями та алгоритм аналізу панелі з 12 експресійними біомаркерами знайдуть практичне застосування – вартість, відсутність у більшості клінік відповідного обладнання та кваліфікованого персоналу, а головне раннє виявлення та поширення методів малоінвазивної онкохірургії передміхурової залози залишає лише наукову цінність отриманих даних.

ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Геращенко Ганни Володимирівни «Генетичні, епігенетичні та експресійні порушення у низці епітелійних пухлин», подана до спеціалізованої вченої ради Д.26.237.01 Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, за своєю актуальністю, науковим і практичним значенням, глибиною і обсягом досліджень, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам ДАК України про присудження наукових ступенів стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук, а її виконавець – Геращенко Ганна Володимирівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальностями 03.00.03 – «Молекулярна біологія», 03.00.22 «Молекулярна генетика».

**Завідувач відділу загальної
та молекулярної патофізіології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України,**

д.мед.н., проф.

Підпис *В.Є. Досенко*
Засвідчую.
Вчений секретар *В.І. Корнійченко*

В.Є. Досенко