

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертацію Маньковської Оксани Сергіївни
«ЕПІГЕНЕТИЧНІ ТА ЕКСПРЕСІЙНІ МАРКЕРИ ПУХЛИН
СЕЧОСТАТЕВОЇ СИСТЕМИ» за спеціальністю
03.00.03 – «Молекулярна біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи Оксани Сергіївни повністю підтверджується важливим медико-соціальним значенням пухлин сечостатевої системи, що спричинюють інвалідизацію та смертність тисяч людей у світі щодня. Роль епігенетичних факторів в етіології раку є безсумнівною, але фактичне наповнення цієї тези є недостатнім – які саме епігенетичні зміни спричинюють трансформацію, промоцію та прогресію пухлин та можуть бути використані в якості біомаркерів, зміни експресії яких генів мають визначальне значення? Увагу дослідниці привернули гени *VIM*, *KRT18*, *RASSF1A*, *NKX3.1*, *CDH1* і *PTEN*, гібридний транскрипт *TMPRSS2:ERG*, кінази родини *Aurora* та довга некодуюча РНК *PANDAR*, що цілком виправдано з огляду на наявні літературні джерела із неоднозначними результатами та мінімальним впровадженням у практичну медицину. Значна частина роботи виконана саме на клінічному матеріалі, що дозволили одразу спів ставляти дані клінічним методом дослідження із результатами молекулярно-генетичного аналізу. Отже робота пані Оксани може знайти безпосереднє впровадження, на чому вона і наголошує у висновках своєї надзвичайно актуальної роботи: «поєднання визначення рівнів днРНК *PANDAR* та маркерів на основі метилювання ДНК для РСМ може бути ефективним для диференціації пацієнтів з раком сечового міхура від індивідів без онкозахворювань».

Наукова новизна отриманих результатів. В роботі виявлено, що клітинні лінії відрізняються за рівнем метилювання досліджуваних генів, зокрема, метилювання онкосупресора *RASSF1A* у LNCaP було найнижчим,

наявність гібридного транскрипту *TMPRSS2:ERG* збільшує рівень метилювання *RASSF1A*, найкращою комбінацією для визначення різниці між хворими на рак передміхурової залози та особами без онкозахворювань є комбінація метильованих генів *PTEN*, *CDH1*, *NKX3.1*, *RASSF1A* та *GDF15*, ген *AURKA* експресується менш активно у злоякісних новоутвореннях, порівняно із доброякісними аденомами, днкРНК *PANDAR* може взаємодіяти з низкою мікроРНК, що беруть участь у регуляції експресії онкогенів, однак її рівень істотно не змінюється в сечі у хворих на злоякісні новоутворення.

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: дослідження проводили на клінічному матеріалі та клітинних лініях із застосування найсучасніших 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. Проведене дослідження дозволить у подальшому застосовувати отримані результати для більш точної діагностики та скринінгу онкологічних захворювань сечостатевої системи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертацію виконано відповідно до плану відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. У роботу включені наукові результати, які отримані автором під час виконання проекту УНТЦ № 6056 «Набір нуклеїнових маркерів для виявлення та диференціювання злоякісних пухлин сечостатевої системи» (2014-2015 рр.), програми «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства» «Гени-супресори пухлинного росту та пухлино-асоційовані гени - як потенційні маркери для діагностики та терапії злоякісних новоутворень» (2015- 2019 р., державний реєстраційний номер 0115U002950) та в рамках 5-річної бюджетної тематики відділу «Ідентифікація нових біомаркерів для діагностики злоякісних новоутворень та розробка підходів до генотерапії пухлин у модельних системах» (I кв.2016 –IV кв. 2020 рр.).

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота викладена на 182 сторінках, 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 32 рисунками, результати містяться у 20 таблицях. Перелік використаної літератури включає 171 джерело.

Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальною інформацією про особливості діагностики та типові молекулярно-генетичні порушення при раці передміхурової залози та сечового міхура, неінвазивну діагностику пухлин на основі рідинних біопсій, метилування промоторів онкоасоційованих генів при канцерогенезі, кінази родини Аврора та функціональні характеристики довгої некодуючої РНК PANDAR та її роль у канцерогенезі.

У розділі «Матеріали та методи» описано методи виділення ДНК, РНК, культивування клітинних ліній, кількісної ПЛР у реальному часі, бісульфітну конверсію, метил-специфічну ПЛР та інші молекулярно-генетичні методики. Для встановлення статистичної значущості використано сучасні підходи аналізу даних.

У розділі „Результати досліджень” наведено результати генетичного дослідження та аналізу клінічних даних.

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 нею висновки та рекомендації, що чітко сформульовані в дисертації, досить повно відображені в опублікованих 17 наукових працях, із яких 5 статей, що опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та 12 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. В огляді літератури надто велика увага приділена клінічним характеристикам раку передміхурової залози та сечового міхура – це, вочевидь, медичні питання, що не мають прямого відношення до теми дисертаційного дослідження.

2. Недостатньо наголошено на парадоксі довгої некодуєчої РНК PANDAR, транскрипція якої забезпечується «стражем» геному білком р53, а її підвищення із наступним пригніченням експресії проапоптотичних генів, навпаки, сприяє розвитку пухлини.

3. Не зовсім вдалим виглядає словосполучення «у циркулюючих клітинах з сечі», бо сеча, на відміну від крові, не циркулює, а щастя, а просто виділяється.

4. Залишилося відкритим практичне питання: якій же мінімальний набір молекулярно-генетичних тестів потрібно застосувати, щоб з високою точністю визначити наявність новоутворення у сечовидільній системі?

ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Маньковської Оксани Сергіївни «Епігенетичні та експресійні маркери пухлин сечостатевої системи», 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 кандидата наук, а її виконавець – Маньковська Оксана Сергіївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальностями 03.00.03 – «Молекулярна біологія».

Завідувач відділу загальної
та молекулярної патофізіології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України,
д.мед.н., проф.

В.Є. Досенко

