

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Маньковської Оксани Сергіївни

“Епігенетичні та експресійні маркери пухлин сечостатевої системи”,
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних
наук за спеціальністю 03.00.03. – молекулярна біологія

Актуальність роботи. Актуальність дисертаційної роботи Оксани Сергіївни Маньковської визначається невідомим зростанням кількості онкологічних хворих і високим рівнем смертності, а високоефективних методів лікування для таких хворих ще немає. Добре відомо, що злоякісні пухлини передміхурові залози є найчисленнішими за поширенням злоякісними новоутвореннями у чоловіків в Європі і величезна кількість досліджень присвячена вивченню причин та механізмів виникнення цього типу пухлин, а також виявленню надійних біологічних маркерів для ранньої діагностики злоякісних пухлин. І тому дисертаційна робота Оксани Сергіївни присвячена саме виявленню потенційних біологічних експресійних маркерів пухлин сечостатевої системи у біологічних рідинах хворих з можливістю їх використання для неінвазивної діагностики цих захворювань.

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота Оксани Сергіївни складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, 5 розділів експериментальної частини, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел, який охоплює 171 найменування. Дисертацію викладено на 192 сторінках стандартного машинопису, вона містить 32 рисунки та 20 таблиць.

В розділі 1 «Огляд літератури» Оксана Сергіївна проаналізувала досить велику кількість сучасних літературних наукових даних за темою роботи та обґрунтувала необхідність проведення своїх досліджень. Вона детально охарактеризувала молекулярно-генетичні порушення у злоякісних пухлинах передміхурової залози та сечового міхура і особливості діагностики, приділивши особливу увагу неінвазивній діагностиці пухлин на основі

рідинних біопсій. Окремим розділом розглядається метилювання промоторів та його роль у регуляції експресії генів, у тому числі й промоторів онкоасоційованих генів за умов канцерогенезу. Оксана Сергіївна провела також детальний аналіз кінази родини Аврора та довгої некодуючої РНК PANDAR, розкрила їх функціональне значення і участь у канцерогенезі.

В розділі «Матеріали і методи» описані сучасні молекулярно-біологічні та інші методи, які були використані нею під час виконання дисертаційної роботи (виділення ДНК та РНК, культивування клітин, синтез кДНК і ПЛР аналіз, метил-специфічна ПЛР, біоінформатичний аналіз та статистична обробка даних).

В розділі «Результати експериментальних досліджень» представлені результати численних експериментальних досліджень, які демонструють наявність істотних змін у метилюванні низки генів у клітинних лініях, тканинах аденокарцином, парних умовно нормальних тканинах та аденомах передміхурової залози, безклітинній сечі пацієнтів з раком передміхурової залози та раком сечового міхура і референсних груп. На основі цих даних запропоновано використовувати набір метильованих генів *PTEN*, *CDH1*, *NKX3.1*, *RASSF1A* та *GDF15* для дискримінації хворих на рак передміхурової залози від осіб без раку. В той же час, для хворих на рак сечового міхура є більш характерною наявність метилювання більшості генів з набору *VIM*, *TMEFF2*, *GDF15*, *RASSF1A* і *NKX3.1* у порівнянні з особами без онкозахворювань. Досить цікавими є результати по вивченню експресії генів кіназ родини Аурога і кінази BRAF у клінічних зразках хворих на рак передміхурової залози. Автору вдалося виявити різницю в експресії цих генів між онкохворими і відносно здоровими людьми, зокрема, виявлено вищий рівень експресії гена кінази Аурога А у хворих на рак передміхурової залози. У хворих на рак сечового міхура виявлено підвищений рівень довгої некодуючої РНК PANDAR.

Варто відмітити, що тримані Оксаною Сергіївною дані суттєво розширюють розуміння молекулярних механізмів розвитку патологічних змін у

метилуванні та експресії певних генів і вказують на можливість використання таких змін для діагностики хворих на рак сечового міхура та передміхурової залози.

У розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» Оксана Сергіївна провела детальний аналіз власних досягнень та порівняла їх із численними даними, опублікованими іншими дослідниками. Все це дало можливість ідентифікувати групи генів для включення їх в панель маркерів на основі їх метилування.

Зроблені Оксаною Сергіївною висновки повністю відповідають отриманим результатам. Основні наукові положення та висновки дисертаційної роботи знайшли відображення в 5 статтях у фахових журналах та 12 тезах доповідей, зроблених на наукових форумах.

Стосовно **наукової новизни одержаних результатів**. Отримані Оксаною Сергіївною наукові результати є новими, вони мають як наукове, так і практичне значення. Наукова новизна її дисертаційної роботи полягає у виявленні змін у метилуванні низки генів у клітинних лініях, тканинах аденокарцином, парних умовно нормальних тканинах та аденомах передміхурової залози, безклітинній сечі пацієнтів з раком передміхурової залози та раком сечового міхура і референсних груп, а також у можливому використанні набору метильованих генів *PTEN*, *CDH1*, *NKX3.1*, *RASSF1A* та *GDF15* для дискримінації хворих на рак передміхурової залози від відносно здорових осіб. У той же час, для хворих на рак сечового міхура є більш характерним наявність метилування більшості генів з набору *VIM*, *TMEFF2*, *GDF15*, *RASSF1A* і *NKX3.1* у порівнянні з відносно здоровими особами. Важливим результатом роботи є виявлення змін в експресії генів кінази родини Aurora і кінази BRAF у клінічних зразках хворих на рак передміхурової залози, зокрема підвищений рівень експресії гена кінази Aurora A у хворих з аденокарциномою передміхурової залози, а у хворих на рак сечового міхура виявлено підвищений рівень довгої некодуючої РНК PANDAR.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає в ідентифікації потенційних маркерів розвитку раку передміхурової залози та сечового міхура. Це важливо не лише для кращого розуміння розвитку цих онкозахворювань, а і для подальшого створення ефективних діагностичних та прогностичних маркерних систем для раку передміхурової залози та сечового міхура.

Поряд з наведеними позитивними сторонами дисертаційної роботи, є і недоліки:

1. Занадто великий об'єм дисертаційної роботи (192 сторінки) і поставлених завдань (8).

2. Велика кількість висновків (10). Їх можна було скоротити до 5 – 6, вибравши для висновків найважливіші результати.

3. Оскільки робота є закінченим дослідженням, то вважаю не доцільним вносити у висновки результати, що потребують подальшого дослідження, зокрема висновок 9.

На мій погляд було б доцільно почути думку Оксани Сергіївни стосовно деяких **дискусійних питань**:

1. Чи є метилювання пухлино-асоційованих генів постійною величиною? Чи змінюється воно в процесі росту пухлини?

2. Яким чином можна впливати на рівень метилювання пухлино-асоційованих генів?

3. Які молекулярні механізми контролю метилювання промоторів у злоякісних пухлинах?

4. Яким чином антипухлинна терапія може змінювати рівень експресії пухлино-асоційованих генів?

5. Чи можете Ви назвати найбільш доцільні методи лікування хворих на рак передміхурової залози та сечового міхура на основі отриманих Вами результатів і даних літератури ?

Вищезазначені питання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони стосуються представлення та інтерпретації результатів.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій. Дисертаційна робота Маньковської Оксани Сергіївни "Епігенетичні та експресійні маркери пухлин сечостатевої системи" є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів ця дисертація відповідає вимогам п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013р., (зі змінами, внесеними згідно Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015р., №1159 від 30.12.2015р. та №567 від 27.07.2016р.), які пред'являються до кандидатських дисертацій, а Оксана Сергіївна заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03. – молекулярна біологія.

Офіційний опонент,

завідувач відділу молекулярної біології

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України



Мінченко О.Г.

Підпис *Мінченко О.Г.*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
національної академії наук України
" 20 р. *20*

