

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ  
ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ

СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»  
(ИЦиГ СО РАН)

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090  
Телефон: (383) 363-49-80  
Факс (383) 333-12-78  
E-mail: [icg-adm@bionet.nsc.ru](mailto:icg-adm@bionet.nsc.ru)  
<https://www.icgbio.ru>  
ИНН 5408100138/КПП 540801001  
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

от 10.11.2023 № 15345-29-38/1135  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»  
и.о. директора ИЦиГ СО РАН  
академик РАН  
Кочетов А.В.  
« 10 » ноября 2023 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Губенко Марины Сергеевны на тему  
«Роль эпигенетических механизмов регуляции группы опухоль-  
ассоциированных генов в патогенезе немелкоклеточного рака легких»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук  
по специальности 3.3.3. – Патологическая физиология.

### Актуальность работы

Диагностика и терапия онкологических заболеваний постоянно совершенствуются, однако смертность от рака остается высокой, особенно в случае рака легкого. Только в 5-7% случаях онкологические заболевания являются наследственными, остальные возникают в результате накопления новых генетических и эпигенетических повреждений. Повреждения информационных молекул в клетках возникают в результате внешних воздействий (радиация, курение, работа на вредном производстве) и влияния

эндогенных нарушений (сбой в гормональной или иммунной системе).

Несмотря на большую социально-экономическую и научную значимость проблемы развития онкологических заболеваний, многие вопросы в этой области остаются открытыми. Их решение возможно в результате накопления знаний о тонких патофизиологических механизмах, лежащих в основе канцерогенеза. В частности, актуальным является выяснение молекулярно-генетических факторов, определяющих трансформацию здоровых клеток в опухолевые в связи с преобразованием генетической программы из нормальной в патологическую. Важным также представляется поиск новых молекулярных маркеров, информативных для разработки алгоритма успешной ранней диагностики и точного прогнозирования как течения, так и исхода онкологического заболевания.

В связи с вышесказанным, М.С. Губенко поставила своей целью определение роли аномальной экспрессии микроРНК (миРНК) и аномального метилирования ДНК в регуляции экспрессии опухоль-ассоциированных генов, связанных с процессами программируемой клеточной гибели в патогенезе немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ).

В ходе выполнения работы автором были сформулированы и успешно решены следующие научные задачи:

1. На выборке парных (опухолевая / нормальная ткань) образцов от пациентов с НМРЛ провести анализ уровня метилирования группы белок-кодирующих генов (DAPK1, ARAF1, VIM, VAX, BCL2) и генов миРНК (MIR124-1/2/3, 125B-1, 127, 129-2, 137, 375, 339, 1258) и определить aberrантно метилированные гены, вовлеченные в патогенетические механизмы развития НМРЛ.
2. Оценить изменение уровня метилирования двух групп генов с учетом прогрессии опухоли: увеличения размера опухоли, снижения степени дифференцировки опухолевых клеток, лимфогенного метастазирования.
3. Выявить особенности экспрессии белок-кодирующих генов и генов миРНК

на клинических образцах НМРЛ. Оценить влияние метилирования собственных CpG-островков белок-кодирующих генов и генов миРНК на их экспрессию.

4. Оценить возможность существования новых взаимодействующих пар миРНК – мРНК ген-мишень, принимающих участие в развитии НМРЛ, на основе анализа уровней аномальной экспрессии белок-кодирующих генов и генов миРНК.

5. Оценить возможность использования значений уровня метилирования исследованных генов как потенциальных маркеров для диагностики и/или прогноза НМРЛ.

#### **Научная новизна исследования**

В результате проведения работы автором получены новые знания, которые расширяют представления о патофизиологических механизмах опухолевого процесса в легочной ткани. Применение современных молекулярно-генетических методов исследования, включающих в себя оценку экспрессии белок-кодирующих генов и генов микроРНК, определение уровня метилирования указанных генов, в комплексе с клинико-морфологическим анализом образцов опухолевой и здоровой ткани позволило установить участие эпигенетических механизмов регуляции опухоль-ассоциированных генов в патогенезе немелкоклеточного рака легкого.

Автором впервые показан аномально высокий уровень метилирования генов MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR129-2, MIR137, MIR1258 и MIR339, а также генов BIM и BAX в опухолевой ткани по сравнению с прилежащей гистологически нормальной тканью легкого.

Впервые показано, что уровень метилирования промоторных районов генов BIM, BAX и генов миРНК MIR125B-1, MIR127, MIR137, MIR1258, MIR339 значительно повышался при переходе от ранних к более поздним стадиям развития опухоли.

Впервые в опухолях больных НМРЛ выявлено статистически значимое

изменение уровня экспрессии белок-кодирующего гена *BAH* в связи с изменением статуса метилирования его промотора, что указывает на функциональную роль метилирования в нарушении регуляции экспрессии гена *BAH*.

Впервые у пациентов с НМРЛ установлена статистически значимая обратная зависимость между уровнями экспрессии мРНК белок-кодирующих генов и миРНК, участвующих в программируемой клеточной гибели: *miR-125b-5p – BCL2/DAPK1*; *miR-127-5p – BCL2*; *miR-375 – BCL2/BIM/DAPK1*; *miR-339-3p – DAPK1*.

Полученные при выполнении диссертационной работы результаты вносят вклад в развитие представлений о роли эпигенетических факторов, связанных с процессами программируемой клеточной гибели, в патогенезе немелкоклеточного рака легкого.

### **Практическая значимость исследования**

Диссертационная работа, выполненная М.С. Губенко, имеет не только высокую теоретическую значимость для патофизиологии, но и большое практическое значение в онкологии. Результаты исследований, направленных на выявление аномальной экспрессии и/или метилирования в генах *DAPK1*, *ARAF1*, *BIM*, *BAH*, *BCL2* и регуляторных миРНК, открывают перспективы для дальнейшего изучения патофизиологических механизмов канцерогенеза НМРЛ и его гистологических подтипов – аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого. Полученные результаты могут быть использованы в клинической практике для последующей разработки эффективных методов дифференциальной диагностики и лечения НМРЛ. В частности, выявленные изменения уровня метилирования промоторных районов генов миРНК представляются перспективными для разработки на их основе новых систем онкомаркеров с высоким диагностическим потенциалом.

Материалы диссертации могут быть использованы в ВУЗах медико-

биологического профиля, в частности, в курсах преподавания патофизиологии, молекулярной биологии, онкологии и профилактической медицины.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертация М.С. Губенко написана по стандартному плану и изложена на 122 страницах машинописного текста; включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, список использованной литературы. Следует отметить, что список обсуждаемой литературы является значительным, содержит 211 источников, из которых 37 являются русскоязычными и 174 зарубежными. Диссертация в целом хорошо иллюстрирована 23 рисунками и 11 таблицами, таблицы расположены в разделе «Приложение». **Однако следует отметить, что на некоторых рисунках (например, рис. 13 и рис. 18) данные плохо читаются вследствие их избыточного объема, что усложняет понимание представленных результатов.**

Во введении автор, на основании краткого анализа состояния исследований в области патофизиологии рака легкого, формулирует цели и задачи проводимого исследования. **В качестве замечания следует отметить отсутствие четкого обоснования выбора генов, которые были включены в настоящее исследование.**

Обзор литературы состоит из пяти основных глав, где большое внимание, в частности, в 3 главе, автор уделяет патофизиологии программ гибели клетки, развитию злокачественных новообразований и молекулярно-генетических особенностей рака легкого. Содержание обзора литературы позволяет говорить о глубоком знании автором состояния исследований в этой области. Раздел «Материалы и методы» свидетельствует о проведении работы на самом высоком методическом уровне. В ходе выполнения диссертационной работы автором использованы современные высокоинформативные

молекулярно-генетические и клинико-морфологические методы. Все методики и процедуры описаны четко и ясно, могут быть воспроизведены. Раздел «Результаты и обсуждение» состоит из 6 глав, содержит подробное изложение собственных результатов и анализ их соответствия результатам других исследований. Первая и вторая главы посвящены описанию взаимосвязей аберрантного метилирования белок-кодирующих генов и генов миРНК с развитием НМРЛ и его гистологических подтипов. Автором рассмотрены значимые ассоциации между уровнем метилирования изученных генов и клинико-патологическими характеристиками образцов опухоли.

Третья глава этого раздела содержит результаты анализа роли метилирования в нарушении экспрессии мРНК 5 белок-кодирующих генов и 9 генов миРНК. Четвертая глава раздела «Результаты и обсуждение» посвящена анализу взаимодействия миРНК и их генов-мишеней, в результате которого автором обнаружено 7 потенциально взаимодействующих пар.

В пятой главе описаны результаты оценки диагностического потенциала статуса метилирования исследуемых генов миРНК. По результатам исследования сформированы 2 панели маркеров, имеющие максимальную чувствительность и специфичность выявления НМРЛ.

В шестой главе раздела «Результаты и обсуждения» автор описывает результаты, полученные в ходе изучения роли метилирования и экспрессии 5 белок-кодирующих генов и генов миРНК в патогенезе НМРЛ. Автором впервые выявлено увеличение уровня метилирования гена ВАХ в образцах НМРЛ по сравнению с нормальной тканью.

Раздел «Выводы» представляет умозаключения автора, которые основаны на полученных в ходе работы результатах и полностью соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Полученные автором научные результаты и оригинальные методические

приемы могут быть использованы в различных российских научно-исследовательских учреждениях.

В целом работа представляет собой завершённое самостоятельное исследование. Результаты диссертационной работы М.С. Губенко полностью отражены в четырех статьях в рецензируемых периодических изданиях, входящих в список ВАК РФ.

Автореферат диссертации полностью соответствует содержанию рукописи и отражает полученные автором результаты.

Приведенные выше замечания не носят принципиального характера и не снижают ценность представленной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Губенко Марины Сергеевны «Роль эпигенетических механизмов регуляции группы опухоль-ассоциированных генов в патогенезе немелкоклеточного рака легких», научный руководитель – кандидат медицинских наук В.И. Логинов, является целостным, законченным научно-квалификационным трудом, выполненным автором самостоятельно. Работа написана единолично, свидетельствует о высокой профессиональной подготовленности автора и содержит новые научные результаты и положения, касающиеся роли эпигенетической регуляции опухоль-ассоциированных генов в патофизиологических механизмах развития немелкоклеточного рака легкого.

По актуальности темы, методическому и научному уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, с изменениями от 18.03.2023 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Губенко Марина

Сергеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология.

Работа обсуждена, отзыв подготовлен в лаборатории микроРНК геномики, заслушан и одобрен на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (протокол № 9 от 10 ноября 2023 г.).

Руководитель лаборатории микроРНК геномики,

ИЦиГ СО РАН,

доктор биологических наук



Рыкова Е.Ю.

Личную подпись д.б.н., Рыковой Е.Ю. заверяю

Ученый секретарь

ИЦиГ СО РАН, к.б.н.



Орлова Г.В.

Дата: 10 ноября 2023 г.