

ОТЗЫВ

*официального оппонента, доктора биологических наук, профессора
Гуляевой Людмилы Федоровны на диссертацию в виде научного доклада
Кудрявцевой Анны Викторовны
«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО
ОБМЕНА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 1.5.3 – молекулярная биология*

Актуальность темы исследования. Онкологические заболевания занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости человека, как по частоте возникновения, так и показателям смертности. К настоящему времени выявлено большое число молекулярных мишеней канцерогенеза, применяемые как для диагностики, так и лечения. Несмотря на достигнутый прогресс в этом направлении, многие онкологические заболевания остаются трудноизлечимыми, что связано, прежде всего, с процессами метастазирования, а также развитием резистентности к проводимой терапии. С активацией энергетических процессов связан дальнейший рост опухоли, часто сопровождающийся метастазированием. В последние годы наблюдается бурный рост новых высокопроизводительных методов анализа макромолекул, участвующих в метаболических процессах. В результате таких исследований получены огромные массивы данных, требующих анализа с помощью биоинформатических подходов. Поэтому поставленная в диссертационной работе цель провести комплексный анализ молекулярно-генетических нарушений, влияющих на энергетический обмен опухолевых клеток, и оценка потенциала их применения в клинической практике является обоснованной и актуальной проблемой современной молекулярной биологии.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, их значение для науки и практики. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения, так как Кудрявцевой А.В. проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование большой выборки пациентов с различными онкологическими патологиями, что позволило получить новые знания о генах, белковые продукты которых участвуют в энергетическом обмене. Некоторые из них могут быть перспективными прогностическими маркерами

развития патологического процесса в опухоли. Все результаты были обработаны с применением современных методов статистики.

Многие результаты проведенного диссертационного исследования носят элементы новизны. Впервые была проведена комплексная оценка особенностей нарушения энергетического обмена в опухолевых клетках при различных злокачественных новообразованиях. Получены результаты, показавшие корреляцию нарушения энергетического обмена с множественным метилированием промоторных участков генов (CIMP+ - CpG Island Methylator Phenotype, или НМ-фенотип, hypermethylated), при раке предстательной железы и колоректальном раке. Впервые установлена связь повышения плотности метилирования генома опухоли при разных видах рака: колоректальный рак (КРР), рак предстательной железы (РПЖ), рак молочной железы (РМЖ), рак легкого (РЛ), рак почки (РП) с наличием определенных драйверных мутаций. В работе также впервые выявлены зависимые от возраста особенности энергетического обмена опухолевых клеток при КРР с учетом их взаимодействия с метаболитами кишечной микробиоты. Впервые проанализированы зависимые от возраста изменения метаболизма, связанные с возникновением опухолей.

Диссертационное исследование Кудрявцевой А.В. имеет неоспоримую теоретическую ценность фундаментального характера в области молекулярной биологии. Результаты, показавшие изменения в экспрессии генов ферментов гликолиза и цикла Кребса, важны для нашего понимания развития энергетических процессов в клетке при злокачественной трансформации. Немаловажное значение для изучения механизмов канцерогенеза имеют результаты о повышении метилирования ДНК, сопровождающееся снижением экспрессии генов, в то время как повышение экспрессии регулируется микроРНК. Не вызывает сомнения, что полученные результаты имеют ярко выраженную практическую ценность. Выявленные гены энергетического обмена, дифференциально экспрессирующиеся в различных типах злокачественных опухолей, которые могут рассматриваться как перспективные прогностические и предиктивные маркеры для клинической практики.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность. Диссертационная работа Кудрявцевой А.В. в виде научного доклада изложена на 60-ти страницах

машинописного текста, состоит из введения, основного содержания работы, заключения, выводов и списка опубликованных работ. Работа иллюстрирована 18-ю рисунками.

Во «Введении» обоснована актуальность темы диссертации и степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы диссертационного исследования, а также положения, выносимые на защиту. В этом разделе приводится информация о соответствии диссертации паспорту научной специальности, подтверждается личный вклад автора в проведение исследования. Отмечается, что представленные в работе экспериментальные данные получены лично автором; либо при его непосредственном участии и руководстве на всех этапах исследования.

Основные результаты исследования опубликованы в 79-х статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus; получено 4 патента РФ на изобретение. Из 79 статей 43 опубликованы за последние 10 лет в изданиях первого и второго квартилей (Q1 и Q2, соответственно).

Раздел «Основное содержание» состоит из 8-ми глав и посвящен описанию результатов собственных исследований. В главе 1 «Материал и методы исследования» указаны клиники, откуда получены образцы тканей. В этом разделе представлена информация о методах анализа мутаций и статуса метилирования, анализа микробиома и экспрессии генов. Глава 2 посвящена идентификации нарушений экспрессии генов, продукты которых участвуют в энергетическом обмене и его регуляции при злокачественных новообразованиях (ЗНО), где на первом этапе был проведен биоинформатический анализ базы данных «TCGA» с последующей экспериментальной проверкой результатов на российской популяции. Глава 3 посвящена определению механизмов онко-ассоциированного изменения экспрессии некоторых генов, вовлеченных в энергетический обмен, при различных нозологических категориях ЗНО. Здесь представлены результаты по регуляции экспрессии генов с участием транскрипционных факторов и микроРНК, а также по альтернативному сплайсингу как способу контроля экспрессии генов. В этой главе также представлены результаты по эпигенетической регуляции экспрессии генов, включая метилирование ДНК, изменения конформации

хроматина с акцентом на гены *SEMG1* и *SEMG2*, кодирующие семеногелины, а также длинные некодирующие РНК. Глава 4 посвящена идентификации потенциальных прогностических и предиктивных маркеров, терапевтических мишеней, а также оценка их прикладного потенциала для РМЖ, РПЖ, КРР. Здесь также анализируются потенциальные противоопухолевые мишени. В Главе 5 проверяется гипотеза о взаимосвязи между активацией гликолиза, гиперметилированием генома, а также рядом драйверных мутаций. Было показано, что для некоторых видов рака, таких как РПЖ и КРР, гиперметилирование генома ассоциировано с активацией гликолиза. В Главе 6 проведена оценка роли драйверных мутаций в формировании CIMP+ фенотипа опухолей и сделан вывод о том, что мутации в *MLH1* при КРР редко встречаются синхронно с мутациями в *APC* и *KRAS*. Разработаны критерии отбора CIMP-опухоли толстой кишки. В главе 7 проводится оценка роли микробиоты в патогенезе рака толстой кишки и особенностей энергетического обмена опухолевых клеток, где делается важный вывод о том, что при КРР микрофлора кишечника может влиять на энергетический обмен в опухоли. Наконец, в главе 8 анализируются зависимые от возраста нарушения метаболизма, вызывающие возникновение опухоли. Проведены эксперименты с использованием *Drosophila melanogaster* и серого кита *Eschrichtius robustus* (*E. robustus*), подтвердившие, что нарушение энергетического обмена характерно для большинства стареющих организмов.

В главе «Заключение» Кудрявцева А.В. приводит краткий анализ полученных результатов, как обширное исследование нарушений энергетического обмена опухолевых клеток на геномном, эпигеномном, транскриптомном и протеомном уровнях. Отмечается, что выявлены особенности энергетического обмена в различных видах злокачественных опухолей, идентифицированы прогностические маркеры и возможные терапевтические мишени, разработаны алгоритмы идентификации групп опухолей, характеризующихся гиперметилированием генома. На примере КРР подтверждена гипотеза о взаимосвязи между активацией гликолиза, гиперметилированием генома, а также наличием ряда драйверных мутаций. Автор также приводит рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, справедливо указывая о необходимости клинической валидации выявленных молекулярных маркеров.

Семь выводов отражают основные результаты диссертационного исследования. В целом, они объективны, полностью соответствуют поставленным задачам, отражают суть и результаты проведенных экспериментов, подтверждаются представленными фактическими данными и статистическим анализом.

На основании анализа диссертации можно сделать вывод о завершенности работы Кудрявцевой А.В. Принципиальных возражений по основной концепции работы, положениям, выносимым на защиту, полученным данным, выводам, не возникло. Отмечая, в целом, высокий уровень выполненного исследования, считаю необходимым в плане научной дискуссии поставить ряд вопросов перед соискателем:

1. Хотелось бы знать мнение автора, почему снижение экспрессии генов энергетического обмена в злокачественных опухолях происходит в основном за счет гиперметиличирования ДНК, а повышение экспрессии обеспечивают, главным образом, регуляторные микроРНК и факторы транскрипции?
2. Известно, что для многих видов рака характерна мутантная форма пируват киназы M2PYK, регулирующая метаболизм в трансформированных клетках. Позволяют ли применяемые в работе подходы выявить этот фермент в исследуемых опухолевых образцах?
3. На основании полученных транскриптомных данных энергетического обмена можно ли сформировать показатели эффекта Варбурга, который характерен не для всех трансформированных клеток.

Заключение. Диссертационная работа Кудрявцевой Анны Викторовны на тему «Молекулярно-генетические нарушения энергетического обмена опухолевых клеток», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой, на основании полученных автором результатов выявлены нарушения энергетического обмена опухолевых клеток на геномном, эпигеномном, транскриптомном и протеомном уровнях, позволившие идентифицировать новые прогностические маркеры и возможные терапевтические

мишени. Считаю, что данная диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 г. № 426 с изменениями от 11 сентября 2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Кудрявцева А.В. заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Руководитель лаборатории молекулярных
механизмов канцерогенеза

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины»

д.б.н., профессор

/  / Л.Ф. Гуляева

Дата: «05» апреля 2023г.

Подпись д.б.н., профессора Л.Ф. Гуляевой

Заверяю:

Начальник Отдела кадров

Минеева О.М.

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины»



Дата: «05» апреля 2023г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

630117, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2

Телефон: +7 (383) 274-95-80. E-mail: director@frcftm.ru. Сайт: www.frcftm.ru.