

Відгук

**офіційного опонента на дисертаційну роботу
Іномістової Марії Володимирівни
"Експресія генів залучених в регуляцію шляху p53 при нейробластомі", що
представлена до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.**

Дисертаційна робота Іномістової Марії Володимирівни присвячена вивченню експресії генів залучених в регуляцію p53 шляху при нейробластомі. Нейробластома – злоякісна пухлина симпатичної нервової системи переважно дитячого віку. Клінічна гетерогенність захворювання відображає складність геномних і епігеномних аномалій при розвитку даної патології. В значній мірі це і обумовлює пошук нових ланок патогенезу при нейробластомі, вивчення яких, як передбачається, поліпшать діагностику і терапію захворювання. Саме це і визначило основну мету дисертаційної роботи – дослідити експресію генів, залучених в регуляцію шляху p53 при нейробластомі.

В рамках поставленої мети – вивчення експресії генів залучених в регуляцію шляху p53 при нейробластомі, були сформульовані завдання, які полягали :

- Визначити статус гена *MYCN* в зразках пухлин НБ.
- Оцінити прогностичне значення змін експресії мРНК гена *MDM2* в пухлинній тканині при НБ.
- Провести дослідження змін функціонування гена *TP53*, таких як його експресію та делецію хромосомної ділянки 17p13.1, де розташовується ген *TP53*, і визначити значення коекспресії *TP53/MDM2* при прогресуванні НБ.
- Дослідити зміни експресії гена *GSTP1* в пухлинній тканині і розподіл поліморфного варіанту A313G та їх прогностичне значення при НБ.
- Визначити зміни експресії мікроРНК-137, мікроРНК-380-5p, мікроРНК-885-5p та мікроРНК родини мікроРНК-34 і їх асоціацію з клінічним перебігом захворювання при НБ.

Робота виконувалась в рамках науково-дослідної теми (№ державної реєстрації 0111U004648, 2011-2016 рр.) «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» на кафедрі загальної та медичної генетики ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка та держбюджетної теми № 11БФ036-01 «Дослідити на генетичному та епігенетичному рівнях ознаки прогресії нейробластоми та визначити нові маркери прогнозу перебігу захворювання у дітей» (№ державної реєстрації 0113U002151, 2013-2015 рр.) на базі науково-дослідної лабораторії експериментальної онкології Національного інституту раку.

Дисертаційна робота Іномістової Марії Володимирівни побудована за стандартною схемою, викладена на 157 сторінках друкованого тексту та складається із “Вступу”, “Огляду літератури”, розділів „Матеріали та методи досліджень”, „Результати досліджень” (2 підрозділи), а також „Аналіз та узагальнення результатів”, “Висновків” і “Списку використаної літератури” (278 посилань). Робота містить 25 рисунків та 15 таблиць.

У “Вступі” чітко обґрунтована тема дисертаційної роботи та її зв'язок з науковими програмами і темами, сформульована мета і конкретні задачі досліджень, а також наукова новизна одержаних результатів та їх практичне значення.

Огляд літератури охоплює велику кількість літературних джерел. Він складається з декількох підрозділів, що описують історію відкриття нейробластоми як пухлини дитячого віку, загальну характеристику нейробластоми, методи клінічної і лабораторної діагностики, роль p53-шляху при її розвитку. Значне місце в огляді займає розділ про роль мікроРНК при нейробластомі. Він є ключовим для розуміння досліджень 4 розділу. На мою думку, дещо забагато уваги приділено клінічним характеристикам нейробластоми. Бажано було б збільшити опис особливостей функціонування p53. Крім того, в роботі зустрічаються 2 форми написання p53. Краще уніфікувати назву протеїну – або p53, або TP53. Огляд літератури написаний добре, він свідчить про обізнаність автора із сучасним станом досліджуваної

проблеми. Загалом він є логічним підґрунтям до розуміння експериментальної частини роботи.

Другий розділ дисертаційної роботи присвячений методам досліджень. Він включає широкий спектр молекулярно-біологічних, молекулярно-генетичних та молекулярно-цитогенетичних методів. Детальний опис методів свідчить про добру обізнаність з ними дисертанта. Варто відмітити, що методичні протоколи повністю відповідають поставленим завданням. Вражаюче виглядає великий об'єм роботи по аналізу біологічного матеріалу (358 пацієнтів), з детальною їх клінічною характеристикою. Експериментальні дані опрацьовані за допомогою відповідних програмних пакетів з використанням методів статистичного аналізу.

Експериментальна частина роботи складається з двох розділів. В розділі 3 Марія Володимирівна аналізує зміни генів залучених в регуляцію шляху p53 при нейробластомі. За допомогою real-time ПЛР та FISH гібридизації було підтверджено, що наявність MNA свідчить про несприятливий прогноз захворювання, теж саме відноситься і до гіперекспресії гена *MDM2*. Не встановлено асоціації експресії p53 в пухлинній тканині з клінічними особливостями нейробластоми. Хромосомна ділянка 17p13.1 (зона розташування p53) була інтактною. Цікаві результати отримані щодо гена *GSTP1*. Гомозиготний варіант гена *GSTP1* за мутантним алелем (генотип G/G), асоційований з несприятливим прогнозом захворювання при нейробластомі, у пацієнтів з низьким рівнем експресії *GSTP1* прогноз перебігу захворювання визначається поліморфним варіантом гена – особи, гомозиготні за алелем дикого типу, відносяться до групи високого ризику.

В розділі 4 аналізується експресія мікроРНК асоційованих з шляхом p53 при нейробластомі. Марія Володимирівна вперше констатує, що зниження експресії мікроРНК-34а, мікроРНК-137 пов'язано з несприятливими клінічними і біологічними особливостями нейробластоми, з ризиком виникнення рецидиву захворювання; в той час як експресія мікроРНК-34b,c не має самостійного впливу на клінічний перебіг захворювання. Марія Володимирівна вперше виявила, що зниження рівня експресії мікроРНК-380-5p в пухлинних клітинах

нейробластоми асоціюється з більш пізніми стадіями захворювання, MNA та високим рівнем експресії *MDM2*. У пацієнтів з MNA підвищений рівень експресії мікроРНК-380-5p асоційований з несприятливим прогнозом захворювання. В цілому робота справляє дуже добре враження. Отримані в цьому розділі результати є пріоритетними, логічним завершенням було б створення відповідних тест-систем.

Результати експериментальних досліджень є достовірними, оскільки вони статистично опрацьовані і ретельно проаналізовані. У зв'язку з цим, принципових зауважень до експериментальної частини дисертації немає.

Як побажання: а) бажано було б у кінці підрозділів підсумовувати отримані дані; б) представляти список опублікованих праць з цього розділу.

Наукові положення дисертаційної роботи Марії Володимирівни та зроблені нею висновки чітко сформульовані у дисертації, повно відображені в опублікованих нею 39 наукових працях, з них 8 статей у вітчизняних фахових наукових виданнях (з них 2 – у виданнях, що входять до міжнародної бази даних SCOPUS; 4 – у виданнях, що входять до міжнародної бази даних Index Copernicus), у 31 тезах доповідей на міжнародних та вітчизняних конгресах, конференціях та семінарах. Зміст автореферату повністю відповідає змісту дисертації.

В процесі роботи над відгуком виникло декілька дискусійних запитань, на які хотілося б почути відповідь Марії Володимирівни :

1. Ваша дисертація має практичне значення. Які ж маркери Ви можете запропонувати для клінічного використання?
2. Чи проводився аналіз кореляції між експресією мікроРНК та p53?
3. Чи існує якась залежність від кількості копій онкогена MYCN і віком дитини при розвитку нейробластоми?
4. В чому полягала мета використання FISH гібридизації для p53 гена?
5. Не всі підрозділи експериментальної частини відображені у висновках. Наприклад – розділ про експресію *GSTP1*.

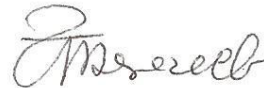
Дисертація написана літературною мовою, хоча зустрічаються деякі стилістичні похибки.

В цілому, робота справляє дуже добре враження.

Висновок.

Вважаю, що дисертаційна робота "Експресія генів залучених в регуляцію шляху р53 при нейробластомі" за своєю актуальністю, об'ємом, новизною отриманих результатів, науково-практичною значимістю безумовно відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 24.липня 2013 р. № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор Іномістова Марія Володимирівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,
завідувач відділу молекулярної
генетики Інституту молекулярної
біології і генетики НАН України, д.б.н.



Г.Д. Телегєєв

