

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения  
“Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Блохина”

Министерства здравоохранения Российской Федерации

доктор медицинских наук, профессор,  
академик РАН И.С. Стилиди



4 октября 2022 г.

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию Коваленко Татьяны Феликсовны

**“Гены длинных некодирующих РНК: их метилирование, экспрессия и функции в  
развитии глиобластомы и карциномы эндометрия”**,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

### **1. Актуальность диссертационной работы**

Работа посвящена актуальной проблеме фундаментальных наук о живом: установлению молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов, продукты которых важны для патогенеза агрессивных злокачественных опухолей человека – глиобластомы и аденокарциномы эндометрия. Автор исследует эпигенетические метки (метилирование) и роль длинных некодирующих РНК в регуляции экспрессии отдельных генов и устанавливает значимость указанных механизмов в прогнозе течения заболевания. Работа актуальна для фундаментальной биологии и имеет прямое отношение к прикладным дисциплинам, главным образом, к онкобиологии.

### **2. Связь с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства**

Исследование соответствует задачам мероприятия 1.2. «Проведение проблемно-ориентированных поисковых исследований и создание научно-технического задела по технологиям в области живых систем» федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007 - 2013 годы" (Постановление Правительства РФ от 17 октября 2006 г. N 613).



### 3. Новизна исследования и полученных результатов

Впервые исследовано метилирование псевдогена *PTENP1* в нормальном эндометрии и при патологических состояниях (предопухолевые изменения, рак). Впервые выявлена корреляция частоты метилирования CpG-островка *PTENP1* и экспрессии его смыслового транскрипта (*lncPTENP1-S*) с увеличением возраста больных. Выявлена новая прогностическая роль метилирования *PTENP1* при глиомах и раке эндометрия. В экспериментах по сайт-направленному метилированию и деметилированию CpG-островка *PTENP1* выявлен новый механизм регуляции транскрипции *lncPTENP1-S*, основанный на метилировании CpG-островка *PTENP1* и активности белка PTEN. Наконец, впервые установлена зависимость экспрессии *linc-RoR* от активности рецептора эпидермального фактора роста в клетках глиобластомы. Получены новые данные об экспрессии длинной некодирующей РНК *linc-RoR* в делящихся клетках глиобластомы, что позволяет предположить роль *linc-RoR* в регуляции митоза. Таким образом, в диссертации получены новые фундаментальные научные результаты.

### 4. Значимость для науки и практики

Общебиологическая значимость работы определяется выявлением механизмов регуляции экспрессии длинных некодирующих РНК. Важными являются результаты автора, углубляющие знания о метилировании генов как механизме избирательной регуляции экспрессии смысловых, но не антисмысловых транскриптов. Интересным и нетривиальным является исследование регуляции митоза посредством *linc-RoR*.

Практический аспект диссертации важен для поиска новых молекулярных маркеров и терапевтических мишеней в опухолевых клетках. Про-онкогенные функции в клетках глиобластомы позволяют рассматривать *linc-RoR* в качестве потенциальной мишени для лечения столь агрессивной опухоли. Выявленная роль метилирования CpG-островка *PTENP1* как фактора выживаемости больных заслуживает дальнейшего изучения совместно с клиницистами.

Неясно, что имеет в виду автор под термином “опухолевая резистентность” (стр.5 автореферата).

### 5. Структура и содержание работы

Диссертационная работа Т.Ф. Коваленко построена по традиционному плану и состоит из введения, изложения целей и задач, обзора литературы, методических приемов, собственных результатов, их обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 144 страницах текста формата А4, содержит 41 рисунок и 9 таблиц.



В разделе “Введение” обоснована актуальность работы, определены ее цели и конкретные задачи, кратко охарактеризована работа в целом. Возможно, достаточно сформулировать единую цель, а не выделять на две. То же справедливо для перечисления задач: их 10, тогда как целесообразно оставить не более 4-5, обобщив отдельные формулировки. Вместе с тем, заявленные цели и задачи производят впечатление глубокой современной экспериментальной работы, междисциплинарной по характеру и сочетающей фундаментальные (регуляция экспрессии генов, структура РНК) и прикладные (прогностическая ценность в онкологии) аспектов.

Обзор литературы состоит из трех разделов. В первом приведены общебиологические данные о структуре некодирующих РНК, их роли в клетках эукариот, главным образом, в регуляции транскрипции генов, а также в трансляции и посттрансляционных свойствах (стабильность) белков, регуляции физиологии митохондрий и передаче внутриклеточных сигналов. Автор анализирует эти сложные вопросы на основании изучения массива современной литературы. Завершается первый раздел изложением свойств некодирующих РНК в канцерогенезе, что логически продолжается во втором и третьем разделах обзора – детальном изложении роли этих РНК в биологии глиобластомы и рака эндометрия. Т.Ф. Коваленко обосновывает выбор собственных экспериментальных моделей: глиобластома и рак эндометрия – высоко злокачественные новообразования, результаты лечения неудовлетворительны, поэтому необходимы углубленные исследования биологических механизмов столь разных и, вместе с тем, трудных для терапии опухолей.

В разделе “Материалы и методы исследования” подробно описаны экспериментальные приемы. Яркое впечатление оставляет разнообразие и современность сложных методов. Это отражает профессионализм, отличающий научную школу, в которой проведено исследование, и мастерство научного руководителя М.С. Павлюкова, собственные работы которого отличаются высоким методическим уровнем. Автор самостоятельно провела анализ уровня метилирования анализируемых генов, а также оценку относительных уровней их экспрессии, клонирование генов, направленное редактирование метилирования ДНК, проточную цитофлуориметрию и сортировку клеток, пролиферативные и цитотоксические тесты, флуоресцентную микроскопию.

Раздел “Результаты и их обсуждение” детально представляет подходы к получению данных. Результаты изложены четко, видна глубокая общенаучная подготовка автора. В соответствии с целями и задачами реализуется последовательная цепь экспериментов – от клинического материала к клеточным моделям. Обсуждение и обобщения удачно вписываются в указанный раздел.



Требует методического пояснения эксперимент, в котором анализирована роль  $\text{pinc-RoR}$  и пролиферативного антигена Ki-67 в отдельных фазах клеточного цикла. Автор указывает, что эти показатели изучены после сортировки клеток на основе окраски пропидия иодидом. Но пропидия иодид окрашивает лишь клетки с неповрежденной плазматической мембраной или ядра после лизиса клеток.

В разделе “Заключение” Т.Ф. Коваленко подводит итог исследованию, дает общую оценку полученным результатам, обсуждает их научную и практическую значимость. Ключевые результаты резюмированы в разделе “Выводы”. Этот раздел выиграл бы от некоторого редактирования: выводы 1-4 отражают ассоциативные связи, выводы 5-9 содержат недостаточно определенные формулировки: “высказано предположение”, “участвует в регуляции”. Такие формулировки обоснованы при обсуждении результатов, выводы же следует представлять в более четком виде. Возможно, гипотетические аспекты из выводов исключить, уменьшив количество последних.

Список цитируемой литературы включает 186 источников. Автореферат проиллюстрирован 23 рисунками. В автореферате обоснованы актуальность проблемы, достоверность полученных результатов и их значимость; определен личный вклад соискателя и сформулированы положения, выносимые на защиту. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

#### **6. Рекомендации по использованию результатов диссертации**

Результаты исследования роли длинных некодирующих РНК в злокачественных опухолях представляются важными для углубления фундаментальных представлений о молекулярных механизмах канцерогенеза и других аспектах биологии опухолевых клеток. Особенно важны результаты, полученные на клеточных моделях как ориентированные на выявление механизмов. Результаты диссертации могут быть использованы в курсах молекулярной биологии и биоорганической химии университетов, а также молекулярной патологии медицинских вузов.

#### **7. Отмеченные недостатки**

Недостатки указаны в соответствующих разделах отзыва (см. выше). В целом, недостатки легко исправимы и не умаляют достоинств диссертации как актуального и современного междисциплинарного исследования.

#### **8. Печатные работы**

Список печатных трудов в автореферате насчитывает 9 статей автора в ведущих отечественных и рейтинговых международных журналах, входящих в перечень журналов и изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций. Материалы диссертации представлены на конференциях в России и за рубежом.



## Заключение

Диссертационная работа Т.Ф. Коваленко является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, посвященным фундаментальным аспектам молекулярной биологии, в котором решена актуальная задача – установлена роль эпигенетических модификаций и некодирующих РНК в экспрессии генов, продукты которых важны для патогенеза злокачественных опухолей человека. Работа выполнена на высоком современном научно-методологическом уровне и имеет значение для экспериментальной и клинической онкологии. Исследование полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (в том числе п. 9) "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539), а автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместной конференции лабораторий механизмов гибели опухолевых клеток, механизмов прогрессии эпителиальных опухолей, цитогенетики, регуляции клеточных и вирусных онкогенов, регуляции иммунитета и отдела химического канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), протокол № 1 от «3» октября 2022 г.

Заведующий лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

доктор медицинских наук

Штиль Александр Альбертович

Подпись А.А. Штиля заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

кандидат медицинских наук

Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

115522, Москва, Москва, Каширское шоссе 24.

Тел.: +7 (499) 324-24-24. Электронная почта: [info@ronc.ru](mailto:info@ronc.ru) официальный сайт: [www.ronc.ru](http://www.ronc.ru)