

«УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора ФГБУ «ГНЦ Институт
иммунологии» ФМБА России

Н.И.Ильина

2018 г.



Отзыв ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России на диссертационную работу Семёновой Галины Владимировны на тему «p21-Активируемые киназы I группы как терапевтические мишени злокачественных опухолей оболочек периферических нервов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.03 – молекулярная биология

Злокачественные опухоли оболочек периферических нервов (MPNST) представляют собой саркомы мягких тканей, которые развиваются из клеток периферической нейроглии (шванновских клеток). Около 50% MPNST возникают у пациентов с нейрофиброматозом I типа (НФИ) вследствие повреждения гена нейрофибромина – одного из важнейших регуляторов активности малых ГТФаз Ras в нервных тканях. Дефицит нейрофибромина в клетках приводит к нарушению сигнальной трансдукции, опосредованной Ras, в частности, к активации ряда онкогенных сигнальных путей. Попытки использования компонентов Ras-зависимых сигнальных путей в качестве агентов молекулярно-прицельной (таргетной) терапии MPNST на

сегодняшний день не увенчались успехом. Таким образом, вклад других сигнальных каскадов в развитие этих опухолей остаётся предметом научных дискуссий, а поиск новых мишеней таргетной терапии MPNST – актуальной задачей.

Целью диссертационного исследования Семёновой Г.В. стала оценка значимости p21-активируемых киназ I группы (PAK1/2/3) в качестве потенциальных мишеней для терапии злокачественных опухолей оболочек периферических нервов (MPNST). **Актуальность** работы не вызывает сомнений, поскольку в настоящее время лекарственная терапия данного заболевания не разработана, а данные о значении сигнальной трансдукции, опосредованной PAK1/2/3, для развития MPNST на сегодняшний день отсутствуют.

Научная новизна диссертации определяется следующими результатами.

В настоящей работе была впервые изучена взаимосвязь между клинико-морфологическими характеристиками опухолей оболочек периферических нервов и уровнем фосфорилирования p21-активируемых киназ I группы в этих опухолях. Было выявлено увеличение уровня фосфо-PAK1/2/3 в тканях злокачественных опухолей оболочек периферических нервов по сравнению с таковым в тканях доброкачественных опухолей и тканях нормальных периферических нервов человека. Было установлено, что наиболее высокий уровень фосфо-PAK1/2/3 характерен для метастазов MPNST. Также было показано, что активность PAK1/2/3 в MPNST не зависит от того, является ли данная опухоль спорадической или сопряженной с нейрофиброматозом I типа.

Кроме этого, в работе было впервые изучено влияние ингибиторов PAK1/2/3 и генетического нокдауна *PAK1/2/3* на пролиферативную и двигательную активность клеток MPNST и показано, что выключение

РАК1/2/3 снижает жизнеспособность и инвазивную способность этих клеток. Была обнаружена положительная корреляция между уровнем фосфо-РАК1/2/3 в клетках MPNST и их чувствительностью к инактивации РАК1/2/3. В работе были впервые проанализированы изменения активности ключевых онкогенных сигнальных каскадов, опосредующие данные биологические эффекты.

В работе был впервые проведён анализ индивидуального и сочетанного воздействия низкомолекулярных ингибиторов РАК1/2/3 (Frax1036) и MEK1/2 (PD0325901) на рост злокачественных опухолей оболочек периферических нервов *in vitro* и *in vivo*. Впервые было продемонстрировано, что эти ингибиторы взаимодействуют по синергическому типу и эффективно подавляют рост клеток MPNST, а также рост подкожных ксенотрансплантатов MPNST и экспериментальных лёгочных метастазов MPNST при совместном использовании.

Достоверность и обоснованность результатов не вызывают сомнений, так как автором проведён анализ большого количества экспериментального материала, использованы современные методы лабораторных исследований и корректные способы статистической обработки данных. Выводы диссертации полностью соответствуют цели и поставленным задачам.

Результаты диссертационной работы были доложены автором на 5 международных научных конференциях и опубликованы в 4 периодических научных изданиях, рекомендованных Министерством образования и науки Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований. Автореферат и опубликованные работы в полном объёме отражают содержание диссертации и дают представление о структуре проведённого исследования и его результатах.

Научно-практическая значимость исследования

Результаты диссертационной работы Семёновой Г.В. дополняют современные представления о молекулярных механизмах канцерогенеза и вносят вклад в развитие фундаментальной и прикладной биомедицины. Представленный в диссертации экспериментальный и теоретический материал позволяет более полно оценить роль p21-активируемых киназ I группы в физиологии опухолевых клеток, что представляет значимый фундаментальный интерес для молекулярной биологии.

Практическая значимость работы определяется перспективами клинического применения ингибиторов p21-активируемых киназ для прогнозирования и лечения злокачественных опухолей оболочек периферических нервов.

Результаты работы могут быть рекомендованы для использования в научно-исследовательских институтах, занимающихся изучением внутриклеточной сигнализации и молекулярного патогенеза злокачественных новообразований, а также для преподавания курса молекулярной биологии в биологических и медицинских ВУЗах.

Общая характеристика работы

Диссертация Г.В. Семёновой объёмом 124 страницы представлена в традиционном виде и состоит из введения, обзора литературы, раздела, посвящённого материалам и методам исследования, главы, объединяющей результаты исследования и их обсуждение, выводов, благодарностей, списка сокращений и библиографии, насчитывающей 193 источника. Работа иллюстрирована 33 рисунками и содержит 2 таблицы.

В первой вводной главе обоснована актуальность темы исследования, сформулирована его цель и задачи, констатирована его научная новизна и практическая значимость.

Во второй главе представлен обзор отечественных и зарубежных публикаций по теме диссертации. Автором проведена системная аналитическая работа по описанию известных белковых взаимодействий, регулирующих работу p21-активируемых киназ, уже исследованных функций РАК1/2/3, а также существующих ингибиторов этих киназ. В главе также разобран молекулярный патогенез нейрофиброматоза I типа и злокачественных опухолей оболочек периферических нервов и способы направленного фармакологического воздействия на эти опухоли.

В третьей главе представлены объекты и методы исследования. В работе использованы современные молекулярно-биологические методы, адекватные поставленным задачам.

В четвёртой главе изложены результаты и обсуждение собственных исследований. Из представленных материалов следует, что диссертантом была проведена масштабная работа по изучению эффектов нокдауна и фармакологического ингибирования p21-активируемых киназ I группы в клетках злокачественных опухолей оболочек периферических нервов *in vitro* и *in vivo*. В процессе исследования была обнаружена зависимость чувствительности клеток MPNST к ингибиторам РАК1/2/3 от исходного уровня фосфорилирования этих киназ в испытываемых клетках. Было показано снижение инвазивной способности клеток MPNST и их метастатического потенциала в ответ на инактивацию РАК1/2/3. На клеточных и мышинных моделях MPNST был показан синергический антипролиферативный эффект комбинации ингибиторов РАК1/2/3 и MEK1/2.

Выводы диссертации сформулированы грамотно и логично вытекают из результатов работы.

Резюмируя, можно обоснованно заключить, что автором получены яркие приоритетные результаты работы и сделанные на их основании выводы соответствуют поставленным задачам и в полной мере отвечают на них.

Замечания

По диссертации имеется несколько вопросов и замечаний, которые относятся, главным образом, к форме изложения и представлению результатов.

1. На микрофотографиях гистологических образцов масштаб обозначен очень мелким и нечитаемым шрифтом. Можно было бы дополнительно указать масштаб в описании к рисункам.
2. Более корректно было бы использовать термин «ксенотрансплантат» или «гетеротрансплантат» вместо термина «ксенографт».
3. В моделях *in vitro* клетки злокачественных опухолей оболочек периферических нервов были устойчивы к воздействию ингибитора MEK1/2, однако, этот ингибитор эффективно подавлял рост опухолей у модельных животных. В диссертации отсутствует объяснение чем обусловлена такая разница между чувствительностью к ингибированию MEK1/2 *in vitro* и *in vivo*?
4. В работе не сделано выводов о токсичности использованной комбинации ингибиторов.

Данные замечания не носят принципиального характера и не могут снизить общей высокой оценки диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Семёновой Галины Владимировны соответствует критериям, установленным "Положением 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), а её автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология."

Отзыв обсужден и одобрен на заседании секции №2 Ученого совета
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА (протокол №2 от 19 февраля
2018 г.).

Доктор медицинских наук,
ведущий научный сотрудник
лаборатории клинической иммунологии

Пащенко Михаил Владимирович

Контактная информация о составителе отзыва,
Пащенко Михаил Владимирович
доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт
иммунологии» ФМБА,

115478, г. Москва, Каширское шоссе, д.24

+79099301770

mvpashenkov@yandex.ru

