

**Отзыв официального оппонента
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**

Актуальность темы выполненной работы

Согласно прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения в ближайшее десятилетие человеческая смертность от онкологических заболеваний выйдет на первое место, обогнав смертность, вызываемую сердечно-сосудистыми заболеваниями. Впечатляющие успехи молекулярной биологии, онкологии и клеточной биологии позволили выявить нарушения сигнальных путей и гены, мутации которых ответственны за такие нарушения, приводящие, в конечном счете, к развитию онкологических заболеваний. Многообразие онкогенов и сигнальных путей, активными участниками которыми они являются, предопределяет чрезвычайно большое число различных видов онкологических заболеваний: подразделяют от 4000 до 8000 видов онкологических заболеваний человека. Следует также учитывать, что у практически каждого больного при возникновении и прогрессии злокачественного заболевания «задействуются» индивидуальный набор генов.

Очевидно, что поиски универсального антиракового терапевтического средства необоснованы и обречены на неудачу. Именно поэтому современные методы борьбы со злокачественными заболеваниями носят характер персонафицированной медицины, направленной на выявление конкретных в каждом случае онкогенов и применении средств направленного подавления их активности.

Диссертационная работа Галины Владимировны Семёновой посвящена изучению роли p21-активируемых киназ в росте и метастазировании злокачественных опухолей оболочек периферических нервов (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors, MPNST). Эти опухоли характеризуются чрезвычайно тяжёлым течением, тенденцией к метастазированию и устойчивостью к традиционным протоколам противораковой терапии, что представляет собой серьёзную биомедицинскую и социальную проблему. Как показала медицинская практика, доступных на сегодняшний день знаний о механизмах развития и распространения MPNST недостаточно для создания подходов их адресной терапии. В этой связи в настоящее время ведётся активный поиск новых терапевтических мишеней MPNST, а также поиск новых диагностических и прогностических критериев этого заболевания. Представленная диссертационная работа, несомненно является актуальной, так как она вносит вклад в понимание молекулярных механизмов развития MPNST и может стать основой для разработки новых подходов к лечению этих опухолей.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием в работе арсенала самых современных методов исследования, тщательным учетом и подробной оценкой результатов. Проведённые эксперименты включают необходимые контроли, что позволяет провести их достоверную оценку. Статистическая обработка количественных данных обеспечивает доказательность заключений. Сделанные выводы основываются на полученных результатах, логичны и хорошо сформулированы.

Результаты диссертационной работы были доложены автором на 5 научных конференциях и опубликованы в 4 печатных изданиях. Публикация результатов этой работы в высокорейтинговом международном научном журнале *Oncogene* (IF 7.5), указывает на то, что они успешно прошли экспертизу профессионального научного сообщества.

Научная новизна

В диссертационной работе Семёновой Г.В. были получены новые приоритетные данные, в частности, была установлена взаимосвязь между активностью p21-активируемых киназ I группы (РАК1/2/3) в тканях опухолей оболочек периферических нервов и степенью злокачественности этих опухолей. Кроме этого, в работе были впервые изучены эффекты фармакологического ингибирования РАК1/2/3 и генетического нокадауна РАК1/2/3 на рост и распространение MPNST, проведён анализ изменения активности киназных каскадов PI3K, MAPK/ERK и Wnt/ β -катенин в клетках MPNST в ответ на инактивацию РАК1/2/3. Впервые был продемонстрирован синергический эффект комбинации ингибиторов киназ MEK1/2 и РАК1/2/3 на рост и метастазирование злокачественных опухолей оболочек периферических нервов *in vivo*.

Теоретическая и практическая значимость

Новые научные представления, полученные автором в ходе анализа результатов диссертационной работы, позволяют более детально описать молекулярные механизмы, лежащих в основе развития и распространения злокачественных опухолей оболочек периферических нервов и, кроме фундаментального значения, имеют прикладной потенциал. Важная роль p21-активируемых киназ I группы в регуляции онкогенных сигнальных путей позволяет рассматривать эти белки в качестве потенциальных биомаркеров и мишеней адресной терапии MPNST.

Оценка содержания диссертации, её структуры и завершённости

Диссертация Г.В. Семёновой оформлена в соответствии с общепринятыми требованиями «Положения о присуждении учёных степеней». Она изложена на 124 страницах и содержит 33 рисунка и 2 таблицы. Список цитируемой литературы включает 193 источника, большинство из которых датированы последним десятилетием. Работа построена по классическому плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, главы с описанием собственных результатов исследования и их обсуждением, выводов и списка литературы.

Во вводной части диссертант формулирует цели и задачи, кратко обосновывает актуальность исследования, оценивает практическую ценность и новизну полученных результатов, приводит сведения об апробации работы.

В обзоре литературы приведены известные данные о структуре и свойствах p21-активируемых киназ и их роли в развитии онкологических заболеваний, а также данные о способах фармакологической регуляции активности этих белков. Кроме этого, автор обсуждает молекулярные механизмы возникновения и прогрессии опухолей оболочек периферических нервов и современные подходы к терапии этих заболеваний. Материал обзора литературы хорошо структурирован и изложен и логично связан с темой диссертации. Обзор даёт ясное представление о предмете исследования и позволяет оценить важность и актуальность выбранного направления работы.

Следующий раздел содержит описание материалов и методов, применённых автором для решения поставленных задач. В разделе представлены все реактивы, оборудование и биологические объекты, использованные в работе. Применявшиеся в работе методы включали гистологическое окрашивание, вестерн блот анализ, липофекцию и ретровирусную трансдукцию эукариотических клеток, анализ их

жизнеспособности и инвазивной способности. Для проведения экспериментов *in vivo* автором были использованы две мышинные модели – модель подкожных ксенографтных MPNST и модель экспериментальных лёгочных метастазов MPNST. Для отслеживания метастазов в реальном времени автором был применён метод биолюминесцентной визуализации. Все методы описаны достаточно подробно для воспроизведения экспериментов. Материал данного раздела свидетельствует о высоком уровне сложности использованных технологий, которые требуют от автора знаний и умений не только в области молекулярной и клеточной биологии, но и в области морфологии, физиологии и биофизики.

Раздел «Результаты и обсуждение» подтверждает успешное решение диссертантом всех поставленных задач. Автором было изучено влияние ингибиторов p21-активируемых киназ на рост и распространение злокачественных опухолей оболочек периферических нервов *in vitro* и *in vivo*, а также сделаны выводы о возможности использования ингибиторов RAK1/2/3 для индивидуальной и сочетанной терапии MPNST. В этом разделе автор кратко резюмирует основные данные исследования и анализирует их с привлечением данных литературы. Полученные результаты изложены ясно и подробно, проиллюстрированы соответствующими рисунками и таблицами, которые облегчают восприятие материала.

В целом диссертация производит благоприятное впечатление. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Сформулированные в работе выводы базируются на обширном экспериментальном материале, полностью обоснованы и экспериментально доказаны. Автореферат диссертации по содержанию полностью соответствует диссертации. Основные положения работы Г.В. Семёновой полностью отражены в 4 статьях, опубликованных в научных журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций.

Работа написана хорошим литературным языком с небольшим количеством опечаток и стилистических погрешностей. При детальном ознакомлении с диссертацией возникает ряд вопросов и замечаний.

1. Для некоторых рисунков не расшифрованы сокращённые названия белков, например, Рисунок 5 и Рисунок 8 обзора литературы.
2. В экспериментах с использованием тканевых микроматриц в описании к рисункам не указаны размеры выборок (Рисунок 15 и Рисунок 16 раздела «Результаты и обсуждение»).
3. Иммуногистохимический анализ тканевых микроматриц выявил увеличение уровня фосфорилирования p21-активируемых киназ в метастазах MPNST по сравнению с таковым в первичных MPNST. Среди использованных клеточных линий MPNST были ли клетки, полученные из метастазов MPNST? Если да, наблюдалось ли аналогичное увеличение активности PAK1/2/3 в этих клетках?
4. Для фармакологического ингибирования PAK1/2/3 в работе из всего многообразия низкомолекулярных ингибиторов был выбран Frax1036. Чем обусловлен такой выбор?

Приведённые замечания имеют частный характер и не снижают научной ценности работы.

Заключение

По актуальности темы, объёму и новизне экспериментального материала, обоснованности выводов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа Семёновой Галины Владимировны является цельным законченным научным исследованием и соответствует всем 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 сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология.

Официальный оппонент

Владимир Сергеевич Прасолов,

главный научный сотрудник,

и.о.заведующего лабораторией клеточных основ развития злокачественных заболеваний

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института молекулярной биологии имени В.А.Энгельгардта

Российской академии наук (ФГБУН ИМБ РАН),

доктор биологических наук, профессор

119991, г. Москва, ул. Вавилова 32

Эл. почта: prassolov45@mail.ru

Тел.: 8(499)135-9849

Подпись д.б.н. Прасолова В.С.

«Удостоверяю»

Ученый секретарь ФГБУН ИМБ РАН

к.в.н. **Бочаров А.А.**

