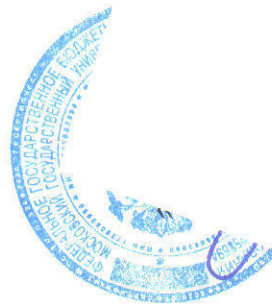


«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»,



Андрей

Андрей Анатольевич

14 ЯНВАРЯ 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова о научно-практической значимости диссертационной работы Калининой Татьяны Сергеевны на тему «Эффекты пестицидов ДДТ и эндосульфана на экспрессию генов-мишеней эстрогенового рецептора в клетках молочной железы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 Биохимия.

Актуальность диссертационной работы

В настоящее время в фокусе исследований находятся экзогенные вещества, которые при длительном воздействии могут оказывать влияние на эндокринную систему человека и, таким образом, менять его гомеостаз, что приводит к возникновению хронических неинфекционных заболеваний, нарушению системы врожденного иммунитета,

возникновению различных опухолевых заболеваний. Такие вещества даже получили специальное название «эндокринные разрушители». К «эндокринным разрушителям» относятся, в том числе, хлорорганические пестициды дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) и эндосульфан. ДДТ и эндосульфан медленно деградируют в окружающей среде и способны накапливаться в тканях живых организмов, так как они не окисляются системой цитохрома P450. Широкое и интенсивное использование ДДТ и эндосульфана привело к мировому загрязнению этими соединениями и их метаболитами. Многие исследователи выявили связь воздействия хлорорганических пестицидов с увеличением риска развития разных форм рака, однако исследования возможной роли ДДТ и эндосульфана в инициации и прогрессии рака немногочисленны и противоречивы.

Данная работа посвящена исследованию влияния эндокринных разрушителей на механизмы, приводящие к возникновению рака молочной железы (РМЖ). РМЖ является наиболее распространенным онкологическим заболеванием у женщин. Несмотря на успехи в его диагностике и лечении, частота заболеваемости продолжает расти. Предполагается, что ДДТ или эндосульфан могут способствовать инициации рака молочной железы через усиление активности экспрессии генов-мишеней эстрогенового рецептора. Среди таких мишеней могут быть не только белок-кодирующие гены, но также гены, кодирующие микроРНК, которые являются важными участниками канцерогенеза. МикроРНК потенциально могут использоваться в диагностике и терапии онкологических заболеваний.

Диссертационная работа соискателя Калининой Т.С. посвящена исследованию эффектов ДДТ и эндосульфана на экспрессию ряда мишеней эстрогенового рецептора, в том числе микроРНК и их генов-мишеней, ассоциированных с канцерогенезом молочной железы, что, несомненно, является актуальной задачей.

Результаты диссертационного исследования были получены при выполнении поддержанных грантами РФФИ (№ 15-15-30012 и № 19-15-00319) проектов «Роль микроРНК в механизмах гормонального канцерогенеза» и «Поиск новых мишеней канцерогенеза молочной железы с помощью микроРНК» (руководитель д.б.н., проф. Гуляева Л.Ф).

Научная новизна исследования

В работе Калининой Татьяны Сергеевны с использованием культур клеток MCF-7 и MDA-MB-231 впервые подробно исследованы эффекты эндосульфана и двух изомеров ДДТ (о,п'- и п,п'-) на экспрессию известных белок-кодирующих генов-мишеней эстрогенового рецептора и генов, кодирующих микроРНК, в промоторных областях которых содержатся сайты связывания эстрогенового рецептора. Также было исследовано влияние прогестерона и тестостерона на экспрессию выбранных генов, поскольку известно, что ДДТ и эндосульфан помимо эстрогенных свойств обладают антиандрогенной и антипрогестеронной активностями.

В ходе работы выявлены гены, экспрессия которых усиливается и эстрадиолом, и о,п'-ДДТ, а также гены, на экспрессию которых тестостерон и исследуемые пестициды могут оказывать противоположные эффекты в клетках гормонозависимого рака. Кроме этого, для ряда микроРНК было показано, что п,п'-ДДТ приводит к изменениям в их экспрессии *in vitro* и *in vivo*.

В диссертационной работе впервые выявлено, что изомеры ДДТ и эндосульфан приводят к снижению экспрессии регуляторов апоптоза *TP53INP1* и *APAF1*, которые являются мишенями для микроРНК miR-190a, miR-190b, miR-19b, miR-27a, экспрессия которых индуцировалась ДДТ.

Кроме этого, показано, что изменения в экспрессии ряда генов, экспрессия которых оказалась чувствительна к пестицидам, ассоциированы с такими характеристиками опухолей молочной железы, как статус

эстрогенового и прогестеронового рецепторов, наличие метастазов в лимфоузлах.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 132 страницах машинописного текста, содержит 38 рисунков и 18 таблиц. Работа имеет традиционную структуру: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений и список литературы (266 источников).

Во введении автором представлены актуальность, цель и задачи, научная новизна работы, научно-практическая значимость, положения, выносимые на защиту, апробация результатов, личный вклад соискателя.

В обзоре литературы (глава 1) представлен обширный научный материал по теме диссертации в виде 7 разделов. В первом разделе представлена информация о структуре и функциях эстрогеновых рецепторов, механизмах регуляции экспрессии генов данными рецепторами. Второй раздел посвящен канцерогенезу молочной железы и роли эстрогеновых рецепторов в этом процессе. В третьем разделе дана информация о ксеноэстрогенах, истории их применения и современном состоянии проблемы загрязнения окружающей среды ДДТ и эндосульфамом, обсуждены возможные механизмы канцерогенного действия этих соединений. Четвертый раздел посвящен микроРНК, их биогенезу, роли в регуляции экспрессии генов. Последующие разделы дают информацию о роли микроРНК в канцерогенезе и влиянию ксенобиотиков на их экспрессию. В конце обзора научной литературы имеется краткое заключение, в котором заключается, что понимание изменений, индуцируемых химическими веществами окружающей среды, предоставит важную информацию о механизмах, лежащих в основе патогенеза

химически индуцированного рака, и позволит наметить пути для разработки новых средств диагностики и лечения онкологических заболеваний.

Вторая глава («Материалы и методы») изложена на 12 страницах, иллюстрирована 4 таблицами. В главе приведены используемые в работе методы исследования: выделение РНК и микроРНК, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени для оценки количеств мРНК и микроРНК, Вестерн-блот, биоинформатический и статистический анализы.

В третьей главе представлены результаты исследования, подробно рассмотрено влияние гормонов и инсектицидов ДДТ и эндосульфана на экспрессию генов-мишеней эстрогенового рецептора в клетках гормонозависимого рака молочной железы и в клетках рака молочной железы, не экспрессирующих рецепторы половых гормонов. Также представлены результаты исследований по оценке экспрессии микроРНК в молочной железе крыс Вистар, подвергнутых хроническому действию п,п'-ДДТ, и результаты оценки уровней мРНК и микроРНК исследуемых генов в образцах опухолей молочной железы. Для ряда генов проанализирована связь между изменением их экспрессии и клинико-патологическими характеристиками опухолей молочной железы. Глава изложена на 44 страницах, хорошо структурирована и иллюстрирована 22 рисунками.

В четвертой главе автор подробно обсудил результаты проведенных исследований, корректно сопоставил их с данными опубликованных ранее работ.

В заключении изложены основные итоги исследовательской работы. Автором сделано 7 выводов, которые отражают основные результаты исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации, их достоверность

Результаты исследования отражены в положениях, выносимых на защиту, и выводах. Достоверность представленных в работе результатов подтверждается большим объемом экспериментального материала, который получен с использованием современных биохимических и молекулярно-биологических методов и методических подходов, соответствующих поставленным задачам. Полученные результаты были подвергнуты корректной статистической обработке. Результаты диссертационного исследования представлены на зарубежных и российских международных конференциях, опубликованы в 16 научных работах, из которых 5 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и WoS.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные в работе данные расширяют существующие представления о роли мишеней эстрогенового рецептора и, в частности, микроРНК в механизмах действия негенотоксических ксенобиотиков, таких как ДДТ и эндосульфан. Показано, что ДДТ и, в меньшей степени, эндосульфан приводят к изменениям в экспрессии белок-кодирующих и микроРНК-кодирующих генов, изменение уровня мРНК или микроРНК которых ассоциировано с клинико-патологическими характеристиками опухолей молочной железы. В практическом применении полученные в работе данные открывают возможности для разработки новых способов терапии или диагностики рака молочной железы.

Замечания по работе

Принципиальных замечаний по работе Т.С. Калининой нет. Можно отметить излишнюю фокусированность обсуждения результатов в контексте исследований рака молочной железы в ущерб обсуждения общих механизмов действия «эндокринных разрушителей» через модуляцию ядерных рецепторов и микроРНК, что имеет важное фундаментальное значение. Хотелось бы, чтобы соискатель уточнил важность полученных результатов в контексте понимания молекулярных механизмов воздействия «эндокринных разрушителей» на возникновение нарушений в клетках-мишеней.

Стоит отметить, что указанные недостатки работы носят рекомендательный характер, не касаются существа работы и не снижают ценности и значения выполненного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Калининой Татьяны Сергеевны «Эффекты пестицидов ДДТ и эндосульфана на экспрессию генов-мишеней эстрогенового рецептора в клетках молочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для расширения понимания последствий воздействия гормон-подобных соединений на клетки, экспрессирующие рецепторы половых гормонов. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, достоверности полученных результатов, полноте изложения и обоснованности выводов соответствует требованиям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор

заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре отдела биокинетики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ протокол № 1 от «16» января 2023 г.

Ведущий научный сотрудник отдела биокинетики,

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ,

доктор химических наук

ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
ЗАВ. КАНЦЕЛЯГИЕЙ
Н.Н. СИДОРОВА

20.01.2023
Зам. директор

Сергеева Марина Глебовна

А.Н. Белозерского, МГУ

Фенюк Борис Александрович

1199 Ленинские горы, дом 1, стр. 40. Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова – обособленное структурное подразделение; тел. (8495)9395359; fxb@belozersky.msu.ru