

Отзыв

официального оппонента

Доктора биологических наук Борисенкова Михаила Федоровича
на диссертацию Губаревой Екатерины Александровны
на тему «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на
канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология

Актуальность темы диссертационного исследования

Взаимосвязи между нарушением циркадианных ритмов и опухолевым процессом вызывают интерес научного сообщества в течение нескольких последних десятилетий.

Известно, что у млекопитающих циркадианные ритмы регулируют значительную часть физиологических функций. На клеточном уровне система часовых генов и белков влияет на пролиферацию, дифференцировку, миграцию и гибель клеток. Хорошо известно, что данные процессы нарушены в раковых клетках.

Нерегулярные циклы освещения и темноты (например, у людей, которые имеют сменный характер работы, проживают в высоких широтах) вызывают нарушения суточных ритмов. Показано, что в этих группах людей повышен риск развития злокачественных новообразований некоторых локализаций. Применение мелатонина (гормона эпифиза), который выполняет функцию синхронизации центрального (супрахиазматическое ядро) и периферических осцилляторов, положительно влияет на результат лечения опухолевых заболеваний у человека и животных. Показано, что в различных опухолях человека нарушается согласованная экспрессия часовых генов – во многих случаях экспрессия репрессоров транскрипции *Per* и *Cry* снижается, а экспрессия активаторов транскрипции *Bmal* и *Clock* повышается. При этом

имеющиеся экспериментальные данные о ритме экспрессии часовых генов в опухолях не позволяют выявить общих тенденций. Влияние нарушения режима освещения и введения мелатонина на клеточные «часы» в опухолях и возможности фармакологической коррекции нарушений суточных ритмов в них остаются недостаточно изученными. Причем эти вопросы не могут быть полноценно исследованы в эпидемиологических и клинических наблюдениях.

Таким образом, работа Губаревой Екатерины Александровны, посвященная изучению влияния мелатонина на канцерогенез при нарушении суточных ритмов, а также оценке суточного ритма экспрессии часовых генов и белков у животных с опухолями, представляется актуальной.

Научная новизна исследования и достоверность полученных результатов

Научная новизна исследования обусловлена тем, что впервые проведено сопоставление экспрессии часовых генов и их белковых продуктов в опухолях нескольких локализаций в сравнении с нормальными тканями у экспериментальных животных. Показано, что содержание часовых белков в опухолях кожи и легкого изменяется по сравнению с нормальными тканями. В опухолях двух локализаций разного гистогенеза продемонстрировано увеличение содержания часовых белков-активаторов транскрипции. Также впервые было показано, что у животных со злокачественными опухолями молочной железы изменяется суточная динамика экспрессии часовых генов в супрахиазматическом ядре головного мозга и печени. Одновременно с этим, продемонстрировано корректирующее действие экзогенного мелатонина на канцерогенез в условиях нарушения светового режима.

Достоверность полученных данных обусловлена использованием хорошо охарактеризованных ранее моделей канцерогенеза и современных методов исследования, достаточным объемом экспериментального материала с включением необходимых опытных и контрольных групп. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием надлежащих критериев.

Научно-практическая значимость

Проведенная работа продемонстрировала, что нарушение суточных ритмов промотирует канцерогенез, индуцированный химическими факторами, при этом опухолевый процесс оказывает влияние на ритм экспрессии генов, как в опухолевой ткани, так и в супрахиазматическом ядре, которое регулирует суточные ритмы всего организма. Применение хронобиотиков, в частности мелатонина, оказывает нормализующий эффект при постоянном освещении. Полученные данные расширяют теоретические представления о роли часовых генов и белков в развитии опухолевого процесса.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 163 страницах и состоит из введения, материалов и методов, результатов экспериментов, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы. Последний включает в себя 273 источника, из них 261 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 41 рисунком.

Во **введении** автор обосновывает актуальность тематики исследования, формулирует цель и задачи работы, научную новизну, научно-практическую значимость. Приводит положения, выносимые на защиту.

В главе «**Обзор литературы**» приведен подробный анализ мировых данных по исследуемой проблеме. Автор рассматривает несколько

аспектов взаимосвязи между нарушением циркадианных ритмов и опухолевым процессом. Описаны циркадианные ритмы на уровне организма и отдельных клеток, механизмы их регуляции. Далее приведены данные о связи между клеточными «часами» и ключевыми характеристиками рака. Подробно рассмотрены изменения экспрессии часовых генов в опухолях человека. Систематизированы данные, свидетельствующие о канцерогенном действии нарушения суточных ритмов, а также о противоопухолевом действии мелатонина.

В главе **«Материалы и методы»** автором приводится подробное описание использованных препаратов, экспериментальных животных, методов исследования и характеристики материала, использованного при выполнении исследования. Исследование проводилось на лабораторных мышах; в опытах использовано 270 животных обоего пола. Проведено три отдельных эксперимента. Исследования влияния режима освещения и введения мелатонина на канцерогенез проводились на моделях химически индуцированных опухолей легкого и кожи. Исследование суточных колебаний экспрессии часовых генов и белков и пролиферации кишечного эпителия проводилось на мышах линии FVB, трансгенных по HER2/neu. В исследовании использованы методы полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для анализа экспрессии часовых генов и метод иммуногистохимии для оценки содержания часовых белков.

Глава **«Результаты собственных исследований»** посвящена изложению результатов выполненных экспериментов. В ней последовательно излагаются полученные данные о показателях канцерогенеза при различных режимах освещения, экспрессии часовых генов, содержании часовых белков. Показано, что постоянное освещение повышает уровень канцерогенеза, а введение мелатонина в условиях постоянного освещения тормозит развитие опухолей. Далее приведены результаты оценки суточных изменений экспрессии часовых генов у

мышей линии FVB, трансгенных по HER2/neu в нормальных тканях и опухолях. Установлено, что развитие опухолей молочной железы сопровождается нарушением суточной динамики экспрессии часовых генов в супрахиазматическом ядре гипоталамуса и печени. Также показано, что у животных с опухолями изменяется суточная динамика пролиферации клеток кишечного эпителия. Глава хорошо иллюстрирована таблицами и рисунками.

В главе «Обсуждение результатов собственных исследований» автором обобщаются собственные результаты и сопоставляются с данными литературы. **Выводы** логично вытекают из основных результатов исследования, полностью соответствуют задачам исследования.

Работа прошла всестороннюю апробацию. Результаты исследования были доложены на 10 специализированных конференциях. Основные положения, выносимые на защиту, отражены в 4 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах. Автореферат и опубликованные по теме диссертации работы полностью отражают основное содержание диссертационного исследования.

Заключение

Учитывая все вышеизложенное, диссертационное исследование Губаревой Екатерины Александровны «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей», выполненное под руководством член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора В.Н. Анисимова является самостоятельной законченной научно-исследовательской работой, в которой содержится решение задач, имеющих фундаментальное и научно-практическое значение для онкологии. Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а Губарева Е.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

старший научный сотрудник

Отдела молекулярной иммунологии

и биотехнологии



Борисенков М.Ф.

Института физиологии ФИЦ «Коми научный центр»

Уральского отделения РАН

Адрес: 167982 Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

Телефон: 8(8212) 24-16-83

e-mail: borisenkov@physiol.komisc.ru

Подпись заверяю:

Подпись Борисенкова
Михаила Федор заверяю
Документовед ИФ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН
Троханова Н.Ф.
«06» февраля 2020



«6» 02 2020 г.

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Губаревой Екатерины Александровны

на тему «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухлях у мышей», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности – онкология

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы, должность	Ученая степень (с указанием шифра специальности)	Ученое звание (по специальности, кафедре)	Основные научные труды
Борисенков Михаил Фёдорович	1957 г.р., РФ	Институт физиологии ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», старший научный сотрудник Отдела молекулярной иммунологии и биотехнологии	Доктор биологических наук (04.01.12, 14.01.12)	Старший научный сотрудник	1. Wrist temperature and cortisol awakening response in humans with social jetlag in the north. Polugrudov A.S., Panev A.S., Smirnov V.V., Paderin N.M., Borisenkov M.F., Popov S.V. Chronobiology International. 2016. Т. 33. № 7. С. 802-809. 2. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у человека: состояние проблемы. Анисимов В.Н., Виноградова И.А., Букалев А.В., Борисенков М.Ф., Попович И.Г., Забежинский М.А., Панченко А.В., Тындык М.Л., Юрова М.Н. Вопросы онкологии. 2013. Т. 59. № 3. С. 302-313.

3. Биоритмы, продолжительность жизни и злокачественные новообразования у человека на севере. Борисенков М.Ф. Диссертация на соискание степени доктора биологических наук: 14.01.12, 03.03.01. Сыктывкар, 2012
4. Latitude of residence and position in time zone are predictors of cancer incidence, cancer mortality, and life expectancy at birth. Borisenkov M.F. Chronobiology International. 2011. Т. 28. № 2. С. 155-162.
5. Влияние естественного освещения в период "белых ночей" и мелатонина на суточную динамику общей антиоксидантной активности слюны человека Борисенков М.Ф. Успехи геронтологии. 2007. Т. 20. № 2. С. 76-81.
6. Мелатонин - синхронизатор центральных и периферических циркадианных часов: проверка гипотезы. Борисенков М.Ф., Люсева Е.М., Ерунова Л.А., Поздеева Н.В. Вопросы онкологии. 2006. Т. 52. С. 44.
7. Хронобиология опухолевого роста. Борисенков М.Ф. Вопросы онкологии. 2003. Т. 49. С. 20.

Официальный оппонент:
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник
Отдела молекулярной иммунологии и биотехнологии
Института физиологии ФИЦ «Коми научный центр»
Уральского отделения РАН
Телефон: 8(8212) 24-16-83
e-mail: borisenkov@physiol.komisc.ru
Сведения о с.н.с., д.б.н. Борисенкове М.Ф. заверяю

Борисенков М.Ф.

Подпись Борисенкова
Михаила Сергеевича, заверяю
Доцент ИФ ФИЦ «Коми научный центр»
Борисенков М.Ф.
«06» 02 2020 г.



«06» 02 2020 г.