

**УТВЕРЖДАЮ**

Директор  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России



А.М. Беляев

*А.М. Беляев*

2019 г.

М.П.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей» выполнена в научной лаборатории канцерогенеза и старения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Губарева Екатерина Александровна работала в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в научной лаборатории канцерогенеза и старения в должности научного сотрудника.

В 2012 г. Губарева Е.А. окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет» по специальности психо- и социалингвистика. С 2012 по 2014 года работала в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в лаборатории морфологии опухолей на должности лаборанта, с 2013 года по настоящий момент является научным сотрудником лаборатории канцерогенеза и старения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 511 выдана 28.10.2019 г. федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный

медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель доктор медицинских наук профессор член-корреспондент РАН Анисимов Владимир Николаевич работает в должности заведующего научным отделом канцерогенеза и онкогеронтологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения диссертации «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей» принято следующее заключение: диссертация является самостоятельно выполненной законченной научно-квалификационной работой, имеющей элементы научной новизны, фундаментальное и научно-практическое значение, в которой решена задача изучения экспрессии часовых генов и белков в опухолях нескольких локализаций.

#### **Актуальность исследования**

Циркадианные (суточные) ритмы являются адаптацией к смене дня и ночи и имеются у большинства живых организмов. В отношении млекопитающих доказано, что освещение ночью блокирует синтез мелатонина и нарушает суточные ритмы. В норме циркадианные ритмы на клеточном уровне поддерживаются за счет ритмической экспрессии часовых генов *Bmal*, *Clock*, *Per*, *Cry* и их белковых продуктов; эта согласованная экспрессия необходима для регуляции пролиферации, апоптоза и метаболизма в клетке, а ее нарушение связано с канцерогенезом. Однако, на сегодняшний день данные о нарушениях согласованной экспрессии часовых генов в различных опухолях экспериментальных животных не позволяют выявить общих тенденций. Кроме того, возможность фармакологической коррекции этих нарушений и ее влияние на канцерогенез остается неизученной. Таким образом, диссертация Губаревой Екатерины Александровны, посвященная изучению влияния введения экзогенного мелатонина на канцерогенез при нарушении суточных ритмов, а также оценке суточного ритма экспрессии часовых генов и белков у животных с опухолями является актуальной.

#### **Личный вклад автора**

Автор работы принимал непосредственное участие в планировании экспериментальных исследований, работе с животными, взятии материала, проведении патоморфологического анализа, ПЦР, ИГХ, статистической

обработке результатов и подготовке публикаций. Губаревой Е.А. самостоятельно проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, сформулированы цель и задачи, основные положения, выносимые на защиту, выводы.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Результаты проведенного исследования достоверны и обоснованы, что обусловлено достаточным количеством экспериментальных животных, использованных в опытах (270 мышей), включением необходимых контрольных групп, и применением современных морфологических и молекулярных методов исследования. Проверка гипотез выполнена на нескольких моделях, получен большой объем материала, для анализа которого применялись адекватные статистические методы. Выводы соответствуют задачам исследования, выводы и положения, выносимые на защиту аргументированы.

Диссертация изложена состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований, заключения и обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Диссертационная работа изложена на 163 страницах, иллюстрирована 15 таблицами и 41 рисунком. Список использованной литературы включает в себя 273 источника, из них 261 на иностранных языках.

### **Научная новизна**

Экспериментальное исследование влияния режима освещения в сочетании с введением МТ на канцерогенез и экспрессию часовых генов и белков проведено впервые. Показано, что содержание часовых белков в опухолях кожи и легкого изменяется по сравнению с нормальной тканью, в опухолях двух локализаций разного гистогенеза продемонстрировано увеличение содержания часовых белков-активаторов транскрипции. Показано влияние постоянного освещения и введения мелатонина как на показатели канцерогенеза, так и на систему часовых генов и белков.

Впервые показано, что развитие спонтанных опухолей молочной железы влияет на ритм экспрессии часовых генов в тканях, не затронутых непосредственно опухолевым процессом – печени и центральном осцилляторе организма.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В результате экспериментального исследования выявлено, что нарушение суточных ритмов способствует канцерогенезу, а опухолевый процесс влияет на

ритм экспрессии генов не только в окружающей опухоль ткани, но и в СХЯ, которое регулирует суточные ритмы всего организма. В связи с этим целесообразно дальнейшее изучение препаратов с хронобиотической активностью на экспериментальных моделях различных опухолей. Применение хронобиотиков в лечении онкологических пациентов потенциально может не только повысить эффективность лечения, но и улучшить качество жизни за счет стабилизации суточных ритмов. Помимо этого, полученные данные расширяют теоретические представления о роли часовых генов и белков в развитии опухолевого процесса.

**Научные специальности и отрасль науки, которым соответствует диссертация**

Диссертационная работа «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует специальности 14.01.12 – онкология, в области изучения патогенеза злокачественных опухолей с использованием методов молекулярной биологии и морфологии (п.2).

**Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах**

Основные положения диссертации представлены на 10 научно-практических мероприятиях различного уровня.

По теме диссертации соискателем опубликовано 5 печатных работ, из которых 4 – в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ. Публикации соответствуют требованиям, предъявляемым к изложению основных результатов кандидатской диссертации, предусмотренными пунктами 11 и 13 «Положения ВАК МО РФ о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями от 01.10.2018 г. №1168).

**Соответствие диссертации требованиям, установленным пунктом 14 Положения о присуждении ученых степеней**

Согласно требованиям, установленным пунктом 14 Положения о присуждении ученых степеней, в тексте диссертации отсутствуют заимствования материала без ссылки на источник заимствования.

## Список научных работ соискателя ученой степени

1. Губарева Е.А., Майдин М.А., Тындык М.Л., Виноградова И.А., Панченко А.В. Суточные ритмы пролиферации в кишечном эпителии и опухолях молочной железы у HER-2/neu трансгенных мышей и мышей FVB/N дикого типа и их коррекция мелатонином // Вопросы онкологии. – 2019. – Т.65 – №1. – С.154-158
2. Голубев А.Г., Панченко А.В., Губарева Е.А., Киреева Г.С., Анисимов В.Н. «Часовые гены» и рак молочной железы // Вопросы онкологии – 2019. – Т. 65, №1, – С. 43-55.
3. Панченко А.В., Ланских Г.П., Анисимов В.Н., Янус Г.А., Венина А.Р., Киреева Г.С., Тындык М.Л., Майдин М.А., Губарева Е.А. Суточный ритм экспрессии часовых генов в нормальных тканях и спонтанных опухолях молочной железы у мышей линии FBV и линии FBV, трансгенной по HER2/neu. // Материалы IV Петербургского международного онкологического форума "Белые ночи 2018", Санкт-Петербург: Издатель АННМО, 5-8 июля, 2018 г. - С. 53.
4. Губарева Е.А., Полторацкий А.Н., Панченко А.В., Анисимов В.Н. Суточные ритмы пролиферации в кишечном эпителии и опухолях молочной железы у мышей линии FBV, трансгенных по HER2/neu. // III Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2017», сборник научных работ– Санкт-Петербург, 23-25 июня, 2017 г. – С. 114.
5. Andrey V. Panchenko, Ekaterina A. Gubareva and Vladimir N. Anisimov. Circadian System and Aging in Rodent Models // Circadian Rhythms and Their Impact on Aging/ Ed. S. Michal Jazwinski, Victoria P. Belancio, Steven M. Hill. Springer International Publishing AG, 2017. 103–128 pp.
6. Панченко А.В., Губарева Е.А., Анисимов В.Н. Роль циркадианных ритмов и «клеточных часов» в старении и развитии онкологических заболеваний // Успехи геронтологии. – 2016. – Т. 29, № 1. – С. 29-37.
7. Панченко А.В., Губарева Е.А., Майдин М.А., Тындык М.Л., Виноградова И.А. Роль часовых белков в канцерогенезе кожи у мышей SHR в возрасте 14 месяцев при нарушении светового режима // Вопросы онкологии – 2016. – Т. 62, №5, – С. 666-670.
8. Губарева Е.А., Майдин М.А., Егормин П.А., Тындык М.Л., Анисимов В.Н., Панченко А.В. Влияние постоянного освещения на уровень синтеза часового белка BMAL1 при канцерогенезе кожи у мышей SHR // Материалы 1-го Российского онкологического научно-образовательного форума с международным участием «Белые Ночи – 2015» 8–10 июня 2015 г. г. Санкт-Петербург – с. 411.
9. Губарева Е.А., Панченко А.В, Майдин М.А., Виноградова И.А Влияние постоянного освещения и мелатонина на уровень синтеза часового белка Cry1 в опухолях кожи у мышей SHR // Материалы конференции



«Молекулярная онкология. Итоги и перспективы. 16-17 декабря 2015 г., г. Москва. С. 12-13

10. Губарева Е.А., Майдин М.А., Панченко А.В. Влияние постоянного освещения на экспрессию часового гена CLOCK в опухолях кожи у мышей SHR. // Сибирский онкологический журнал. Приложение №1. Тезисы Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» 22 мая 2015 г. г. Томск – 2015. - С. 28-29.
11. Панченко А.В., Губарева Е.А., Юрова М.Н., Анисимов В.Н. Экспрессия часового гена BMAL1 при канцерогенезе легких у мышей // Сибирский онкологический журнал. Приложение №1. Тезисы Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященная памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» 24 апреля 2014 г. г. Томск – 2014. - С. 97-98.
12. Губарева Е.А., Юрова М.Н., Панченко А.В. Изменения экспрессии часового гена BMAL1 при канцерогенезе легких в условиях различного светового режима у мышей SHR. // Материалы конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии – 2014» (Санкт-Петербург, 9-10 апреля 2014) / Под ред. Проф. Власова Т.Д. – СПб.: «Арт-Экспресс», 2014. С. 36-37.
13. Панченко А.В., Губарева Е.А. Антиканцерогенные свойства мелатонина в условиях нарушения светового режима // Световой режим, старение и рак. Сборник научных трудов II Российского симпозиума с международным участием (Петрозаводск, 17-19 октября 2013 года) – Киров: МЦНИП, 2013. – С. 245-251.
14. Панченко А.В., Губарева Е.А. Влияние светового режима на канцерогенез легких, индуцированный уретаном у мышей / Сборник научных трудов 4 Всероссийского симпозиума с международным участием, Екатеринбург, 24-25 апреля 2013, С. 142-144.
15. Губарева Е.А., Панченко А.В. Канцерогенез легких, индуцируемый уретаном у мышей SHR в условиях постоянного освещения // Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, Т.1. Фундаментальная онкология («Петровские чтения»). Санкт-Петербург, 11-13 сентября 2013г. – Вопр. онкол. – 2013. – Т.59, № 3 приложение. – С.55-56

### **Заключение**

Диссертационная работа «Влияние постоянного освещения и введения мелатонина на канцерогенез и экспрессию часовых генов в опухолях у мышей» Губаревой Екатерины Александровны является самостоятельным законченным исследованием, соответствует требованиям пунктов 9 и 14 «Положения ВАК МО РФ о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (в ред. Постановления Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018) и рекомендуется к

защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Заключение принято на заседании научного отдела канцерогенеза и онкогеронтологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Присутствовало на заседании 20 чел.

Результаты голосования: «за» - 19 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел. Губарева Е.А. в голосовании на участвовала.

Протокол № 3 от «12» декабря 2019 г.

В.н.с. научной лаборатории  
химиопрофилактики рака и  
онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ  
онкологии им. Н.Н.Петрова»  
Минздрава России,  
д.м.н., профессор



В.А. Александров