

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U001014

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 22-02-2024

Статус: Відмінена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Онищенко Катерина Вікторівна

2. Kateryna V. Onyshchenko

Кваліфікація: 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 091 Біологія

Дата захисту:

Спеціальність за освітою: лабораторна діагностика біологічних систем

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): 3375

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34, 34.15

Тема дисертації:

1. Ідентифікація генетичних та епігенетичних змін при світлоклітинній карциномі нирки людини для розробки підходів неінвазивної діагностики захворювання
2. Identification of genetic and epigenetic changes in human clear cell carcinoma for the development of non-invasive diagnostics

Реферат:

1. Рак пов'язаний з різноманітними молекулярно-генетичними порушеннями, які призводять до утворення та розвитку пухлини, але за допомогою них також можливо прогнозувати перебіг захворювання. Розвиток світлоклітинного раку нирки пов'язаний зі змінами багатьох генів-супресорів. Вони можуть бути інактивовані в результаті мутацій, протяжних алельних делецій, метилювання CpG-острівців у промоторних частинах або регулюватися за допомогою різних мікроРНК. Аналіз сучасних даних дає підставу вважати, що значний прогрес в ранній діагностиці раку може бути досягнений завдяки визначенню генетичних/епігенетичних порушень ДНК пухлин, що можуть визначатися як в солідних пухлинах, так і в «рідких біопсіях». Використання позаклітинної ДНК (пкДНК) як потенційного діагностичного маркера пухлин підтверджено різними групами

дослідників для різних типів злоякісних новоутворень. Тому метою дисертаційної роботи було визначення молекулярно-генетичних змін як у біопсіях пухлин нирки, так і на позаклітинних нуклеїнових кислотах плазми крові, що можуть бути маркерами світлоклітинного підтипу раку нирки. Для чого було проведене комплексне молекулярно-генетичне дослідження 122 зразків пацієнтів з пухлинами нирки (переважно I-II стадії). Численні дослідження акцентують увагу на використанні різних асоційованих з раком мікроРНК як індикаторів патологій. В нашому дослідженні було визначено суттєве зниження рівнів мікроРНК miR-324-5p, miR-181a-5p, miR-30a/c-5p, miR-138-1 та miR-200a-3p у біопсіях пухлин в порівнянні з умовно здоровою навколорухлинною тканиною нирки, а рівень експресії досліджуваних мікроРНК має хороший діагностичний потенціал (AUC = 0,7-0,9) і може бути використаний як додатковий діагностичний маркер нирково-клітинного раку. В даній роботі було визначено генетичні (соматичні реорганізації) порушення генів за STR-маркерами локусів: D3S966 та D3S1568 для гена RASSF1, D3S1038, D3S1317 та D3S1038, VHL2, D3S1317 – VHL, D9S916 та D9S974 – CDKN2A. Втрата гетерозиготності гена RASSF1 виявлена у 68,3%, VHL – у 48,2%, CDKN2A – 32,8% інформативних зразків хворих на рак нирки. Проведені нами дослідження з визначення концентрацій пкДНК в крові хворих на рак нирок показали підвищений вміст пкДНК пацієнтів з пухлинами, на противагу від здорових донорів. Використання двох методів діагностики показало, що метод кількісної ПЛР у реальному часі є більш точним для діагностики захворювання (AUC=0,8049), ніж метод інтеркаляції флуоресцентного барвника (AUC=0,7679), та встановлено зростання концентрації цього показника в плазмі крові хворих з раком нирки. Отримані дані також вказують на можливість застосування даного методу як додаткового маркера при первинній діагностиці раку нирки. Сучасні дослідження свідчать про те, що рівень концентрації пкДНК можна використовувати як маркери для попередньої діагностики раку, та для моніторингу наявності в організмі пацієнта метастатичних клітин, не видалених під час операції. В наших дослідженнях ми визначаємо наявність високомолекулярних пкДНК як за цілісністю гена бета-актину, так і з використанням праймерів, що одночасно специфічні до коротких і довгих фрагментів гена GAPDH. Аналіз результатів дослідження показав абсолютно різні дані для онкохворих та контрольної групи (AUC=0,8613), що підтверджує результати, отримані іншими дослідниками для хворих на рак. В контрольній групі пкДНК виявилася помірно фрагментованою (медіана для АСТВ384/АСТВ106=0,685), в той час як у хворих на НКК спостерігався значно більший ступінь фрагментації (медіана для АСТВ384/АСТВ106=1,126). Ці методи дослідження підтвердили як підвищений вміст високомолекулярних ДНК в плазмі хворих на рак нирок, так і можливість використання даного методу для діагностики пухлиноутворення. В даній роботі було визначено метилювання CpG-острівців 11 промоторних ділянок генів-супресорів (RASSF1A, RASSF1C, LRRC3B, GPX3, PCDH8, RUNX3, APC, CDKN2A (p14ARF), CDKN2A (p16INK4a)) на ДНК, виділених з пухлин та плазми крові пацієнтів з раком нирки у порівнянні з контрольними зразками. Було підтверджено не тільки метилювання CpG-острівців промоторів цих генів у пухлинах світлоклітинного раку нирки, але й на пкДНК тих самих хворих. Визначено, що одночасне виявлення статусу метилювання CpG-острівців промоторів генів RASSF1A, GPX3, APC та CDKN2A (p14ARF) на пкДНК плазми крові дозволяє визначити наявність пухлин нирки з великою достовірністю (чутливість – 98%, специфічність – 96%). У дисертаційній роботі було визначено генетичні (соматичні реорганізації) та епігенетичні (метилювання генів, зміна рівнів мікроРНК) зміни у хворих на світлоклітинну карциному нирки, та визначено маркери плазми крові, що характерні для даного типу раку. Отримані результати можуть бути використані, в якості маркерів для створення комплексної системи ранньої діагностики раку нирки, та моніторингу перебігу хвороби.

2. Cancer is associated with various molecular-genetic aberrations that lead to the formation and progression of tumors, but they also offer the potential for predicting the course of the disease. The development of clear cell renal cell carcinoma is linked to alterations in numerous tumor suppressor genes. These genes may undergo inactivation due to mutations, allelic deletions, CpG island methylation in promoter regions, or regulation by various microRNAs. Literature analysis provides grounds to believe that significant progress in early cancer diagnosis can be achieved through the identification of genetic and epigenetic abnormalities in tumor DNA, which can be detected both in solid tumors and in "liquid biopsies." The use of circulating cell-free DNA (cfDNA) as a potential diagnostic marker for tumors has been subsequently confirmed by various groups for different types of

malignancies. Therefore, the objective of the dissertation was to identify molecular-genetic changes both in kidney tumor biopsies and in extracellular nucleic acids in blood plasma that could serve as markers for the clear cell subtype of kidney cancer. To achieve this, a comprehensive molecular-genetic investigation was conducted on 122 samples from patients with kidney tumors, predominantly in stages I and II. It has been demonstrated that the expression levels of microRNAs exhibit promising diagnostic potential (AUC = 0.7-0.9) and can be utilized as additional diagnostic markers for clear cell renal cell carcinoma. This study identified genetic (somatic reorganizations) disruptions in genes using short tandem repeat (STR) markers at loci: D3S966 and D3S1568 for the RASSF1 gene, D3S1038, D3S1317, and D3S1038, VHL2, D3S1317 for VHL gene, and D9S916 and D9S974 for CDKN2A. Loss of heterozygosity of the RASSF1 gene was detected in 68.3%, VHL in 48.2%, and CDKN2A in 32.8% of informative samples from kidney cancer patients. Our studies on determining the concentrations of cfDNA in the blood of kidney cancer patients revealed elevated cfDNA levels in patients with tumors compared to healthy donors. The use of two diagnostic methods showed that real-time quantitative PCR is more accurate for disease diagnosis (AUC=0.8049) compared to the fluorescence intercalating dye method (AUC=0.7679). An increase in cfDNA concentration in the blood plasma of patients with kidney cancer was also established. The obtained data suggest the potential application of this method as an additional marker in the primary diagnosis of kidney cancer. Previous studies indicate that the "integrity index," along with the level of circulating cell-free DNA (cfDNA) concentration, can serve as markers for early cancer diagnosis and for monitoring the presence of metastatic cells not removed during surgery. In our studies, we assessed the presence of high-molecular-weight cfDNA both for the integrity of the beta-actin gene and using primers simultaneously specific to short and long fragments of the GAPDH gene. Analysis of the results revealed significantly different data for cancer patients and the control group (AUC=0.8613). In the control group, cfDNA was moderately fragmented (median for ACTB384/ACTB106=0.685), while in patients with renal cell carcinoma (RCC), a significantly higher degree of fragmentation was observed (median for ACTB384/ACTB106=1.126). These research methods validated both the increased content of high-molecular-weight DNA in the plasma of kidney cancer patients and the potential use of this method for tumor diagnostics. In the presented study, the methylation of CpG islands in the promoters of 11 tumor suppressor genes (RASSF1A, RASSF1C, LRRC3B, GPX3, PCDH8, RUNX3, APC, CDKN2A (p14ARF), CDKN2A (p16INK4a)) was determined on DNA extracted from tumors and blood plasma of kidney cancer 15 patients in comparison with control samples. It was identified that simultaneous detection of the methylation status of CpG islands in the promoters of RASSF1A, GPX3, APC, and CDKN2A (p14ARF) genes on cfDNA in blood plasma allows for highly reliable identification of kidney tumors (sensitivity – 98%, specificity – 96%). Therefore, in the dissertation, genetic (somatic reorganizations) and epigenetic (gene methylation, microRNA level changes) alterations were identified in patients with RCC. Blood plasma markers characteristic of this type of cancer were also determined. The obtained results can be utilized as markers for the development of a comprehensive system for early diagnosis of kidney cancer.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Skrypkina I., Tsyba L., Onyshchenko K., Morderer D., Kashparova O., Nikolaienko O., Panasenko G., Voizianov S., Romanenko A., Rynditch A.V. Concentration and Methylation of Cell-Free DNA from Blood Plasma as Diagnostic Markers of Renal Cancer. Disease markers 08/2016; 2016(14). DOI:10.1155/2016/3693096

- Dubrovska H.V., Onyshchenko K.V., Pereta L.V., Kashparova O.V., Grygorenko V.M., Skrypkinia I.Ya. Microsatellite alteration and methylation of the 16 RASSF1 gene in patients with renal cell carcinoma. Factors of experimental evolution of organisms, 2018, 23, P.192-196. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEE0.v23.1013>
- Onyshchenko K.V., Grygorenko V.M., Pereta L.V., Serbai Yu.R., Voitsitskyi T.V., Skrypkinia I. Ya. Genetic and epigenetic alterations of VHL gene in clear cell renal cell carcinoma. Factors of experimental evolution of organisms. 2019, 24, P. 221-226. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEE0.v24.1105>
- Skrypkinia I. Ya., Onyshchenko K. V., Gerasymchuk D. O., Anopriyenko O. V., Areshkov P. O. Analysis of hsa-miR-30a-5p AND hsa-miR-200c-3p microRNA expression in brain tumor. Factors of experimental evolution of organisms: 2019. 24, P. 227-232. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEE0.v24.1106>
- Onyshchenko K.V., Voitsitskyi T.V., Grygorenko V.M., Saidakova N.O., Pereta L.V., Onyschuk A.P., Skrypkinia I.Ya. Expression of micro-RNA hsa-miR-30c-5p and hsa-miR-138-1 in renal cell carcinoma. Exp Oncol. 2020;42(2):115-119. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-2.14632
- Дубровська Г.В., Онищенко К.В., Перета Л.В., Григоренко В.М., Скрипкіна І.Я. Діагностичне та прогностичне значення гена rassf1 у хворих на нирково-клітинний рак. Урологія, 2018 (87), 22 (4), с 24-28, DOI: 10.26641/2307-5279.22.4.2018.152471
- Скрипкіна І.Я., Онищенко К.В., Кашпарова О.М., Григоренко В.М., Перета Л.В., Онищук А.П., Вікарчук М.В., Банас О.О. Визначення статусу метилування генів LRRC3B, RASSF1A, APC на позаклітинній ДНК та ДНК пухлини хворих із нирково-клітинним раком. Здоров'є мужчини, 2015, 53 (2), 166-170.

Наукова (науково-технічна) продукція: матеріали; методи, теорії, гіпотези; методичні документи

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: 0107U000337 0116U007719 0117U002802 0115U002951 0120U100649

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Скрипкіна Інесса Яківна
2. Inessa Skrypkinia

Кваліфікація: к. б. н., с.н.с., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Досенко Віктор Євгенович
2. Віктор Є. Досенко

Кваліфікація: д.мед.н., с.н.с., 14.03.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-6919-772

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417093

Місцезнаходження: вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гарманчук Людмила Василівна
2. Liudmyla Garmanchuk

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с.

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-1527-2346

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Півень Оксана Олександрівна
2. Oksana Piven

Кваліфікація: к. б. н., с.н.с., 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-6468-649X

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Геращенко Ганна Володимирівна

2. Ganna Gerashchenko

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с., 03.00.03, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-4700-5736

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Філоненко Валерій Вікторович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Філоненко Валерій Вікторович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Крупська І.В.

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна