

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора медицинских наук Раскина Григория Александровича на диссертационную работу Новиковой Инны Арнольдовны «Биологическая роль и прогностическая значимость клеточных и молекулярных характеристик рака ободочной кишки» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6. - Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы диссертационной работы

Колоректальный рак (КРР) характеризуется неуклонным ростом заболеваемости и смертности, является третьим по распространенности раком у мужчин и вторым среди женщин. Заболеваемость КРР составляет примерно 10% всех видов рака и является второй по частоте причиной смерти от него. Приблизительно 20% пациентов на момент постановки диагноза имеют метастазы, а у 50% с изначально локализованным заболеванием метастазы развиваются.

КРР представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся множеством молекулярных изменений, определяющих нарушение регуляции различных сигнальных путей, ведущих к возникновению и прогрессированию опухоли. Высокая межопухолевая и внутриопухолевая гетерогенность на разных уровнях подчеркивает сложную молекулярную биологию новообразования, которая, в свою очередь, влияет на ответ опухоли на терапию и выживаемость пациентов.

В прогрессировании КРР важную роль играет эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), способствующий миграции, циркуляции опухолевых клеток и метастазированию новообразования, приобретению опухолевыми клетками характеристик опухолевых стволовых клеток (ОСК), а также лекарственной устойчивости. Кроме того, взаимодействие между ОСК и их микроокружением играет ключевую роль в регуляции самообновления стволовых опухолевых клеток. Низкая иммуногенность ОСК, обусловленная

снижением или потерей экспрессии опухолевого антигена, подавлением презентации антигена, продукцией ими иммунодепрессивных молекул, ослабляющих иммунную систему; рекрутингом иммуносупрессивных клеток способствует их ускользанию от иммунного надзора, что приводит к нарушению функции иммунных клеток, снижению противоопухолевого ответа и, в конечном итоге, к прогрессированию опухоли и метастазированию.

Наличие перекрестных связей между стволовыми клеточным фенотипом опухолевых клеток, программами ЭМП и опухолевым микроокружением позволяет рассматривать их как неотъемлемую часть друг друга для понимания механизмов их взаимодействия.

Выявление новых данных о биологических свойствах опухолевых клеток и их микроокружения, связанных с прогрессированием заболевания, может оказать существенное влияние на диагностику и разработку перспективных методов терапии КРР. Таким образом, диссертационное исследование Новиковой И.А., выполненное на различных уровнях, направленное на выявление и характеристику важнейших факторов, определяющих неблагоприятное течение рака ободочной кишки, является актуальным и своевременным.

Научная новизна диссертационного исследования

В диссертационной работе Новиковой И.А. представлен ряд научных положений, определяющих новизну исследования. Автором впервые показано сопряжение экспрессии маркеров ОСК и ЭМП в опухоли, количества ЦОК в периферической крови с клинико-морфологическими факторами прогноза: Установлены различия в составе иммунологического микроокружения опухоли в зависимости от качественных и количественных характеристик ОСК в опухоли. На системном уровне показано формирование супрессии врожденного и адаптивного иммунитета при циркуляции опухолевых клеток. Продемонстрировано повышение количества микроРНК с измененной экспрессией в опухоли от II к IV стадии. Экспрессия hsa-miR-26a-5p, в

опухолях и в ЦОК имеет различия. Выявлена ассоциация микроРНК опухоли с генами-мишенями, являющимися ключевыми участниками сигнальных путей эпителиально-мезенхимального перехода и стволовых клеток опухоли.

Разработанные автором прогностические алгоритмы, в состав которых входят показатели экспрессии микроРНК, рецепторов ОСК и ЭМП, системного и локального иммунитета, уровня ЦОК, позволяют оценивать факторы риска летального исхода и метастазирования у больных раком ободочной кишки II-IV стадий в течение пяти лет после операции, что подтверждено патентами РФ.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Диссертационное исследование Новиковой И.А. представляет значительный интерес для науки и практики. В исследовании установлены закономерности взаимодействия опухоли и организма, проанализированы изменения, происходящие на молекулярно-генетическом, клеточном, тканевом, системном уровне и на уровне организма больного при нарастании распространенности рака ободочной кишки, определен вклад изученных показателей в оценку общей выживаемости и риска метастазирования у больных раком ободочной кишки. Разработаны прогностические алгоритмы риска летального исхода и отдаленного метастазирования, позволяющие выделить группы неблагоприятного прогноза.

Практическая значимость работы подтверждена патентными разработками. Автором показана возможность и целесообразность учета экспрессии CD44 в опухолевой ткани и количества ЦОК в периферическом кровотоке для оценки риска летального исхода у больных раком ободочной кишки (RU 2772207). Кроме того, установлено, что наличие у больных раком ободочной кишки III стадии в опухоли мутации гена *KRAS* и количества ЦОК в крови более пяти прогнозирует развитие отдаленного метастазирования в течение двух лет (патенты RU 2613142) с вероятностью 100%. Для определения сроков отдаленного метастазирования в месяцах автором

предложена модель, основанная на учете экспрессии маркера эпителиально-мезенхимального перехода ZEB1 на опухолевых клетках и количества ЦОК в периферическом кровотоке (решение о выдаче патента на изобретение по заявке № 2022108351/14 от 30.03.2022 г.).

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, изложенных в диссертационной работе Новиковой Инны Арнольдовны, не вызывают сомнений. Выводы и рекомендации основаны на значительном объеме данных, полученных в ходе выполнения исследования. Проведенное исследование выполнено на хорошем методическом уровне с использованием современных методов исследования: иммуногистохимическом, проточной цитометрии, иммуноферментном анализе, детекции и сепарации ЦОК с использованием системы Veridex CellSearch, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, биоинформационном анализе). Полученные результаты проанализированы с использованием адекватных статистических методов. Научные положения, выводы и практические рекомендации полностью обоснованы и подтверждены результатами, полученными в ходе исследования.

По теме диссертации опубликовано 48 печатных работ, из них 12 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук, из которых 5 – в изданиях международной реферативной базы данных и системы цитирования, получено 2 патента на изобретение Российской Федерации. Результаты диссертационной работы неоднократно были доложены на российских и зарубежных конференциях.

Объем и структура диссертации, оценка ее завершенности в целом

Диссертационная работа Новиковой И.А. оформлена и изложена в традиционной форме в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК, написана хорошим литературным языком. Методы исследования и обработка информации полностью соответствуют задачам. Диссертационная работа изложена на 346 страницах печатного текста, иллюстрирована 61 рисунком и 97 таблицами, 5 клиническими примерами. Работа состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Библиографический указатель литературы включает 47 отечественных и 568 зарубежных источников.

Во **введении** автор обосновывает необходимость проведения исследования и актуальность выбранной темы диссертации. Цели и задачи сформулированы четко. Научная новизна и практическая значимость не вызывают сомнений. Положения, выносимые на защиту, четко и конкретно сформулированы, что отражает сущность и научную значимость диссертационного исследования.

Обзор литературы представляет собой тщательный обобщенный анализ о молекулярно-биологических и иммунологических характеристиках КРР, механизмах прогрессирования опухоли, опухолевых стволовых клетках (ОСК) и эпителиально-мезенхимальным переходе (ЭМП), циркулирующих опухолевых клетках и их роли в метастатическом каскаде, локальных и системных иммунологических изменениях.

Во **второй главе**, посвященной материалу и методам исследования, автором полно излагается дизайн, грамотно обосновываются принципы отбора пациентов и выбор методов исследования. Подробно представлены методики иммунологического исследования опухоли и периферической крови методом проточной цитометрии и ИФА, детекции и сепарации циркулирующих опухолевых клеток, иммуногистохимического и

молекулярно-генетического исследований. Научный материал обработан с использованием современных методов статистического анализа.

Третья глава посвящена изучению частоты выявления и сопряжения уровня ЦОК у больных раком ободочной кишки с клинико-морфологическими факторами прогноза, наличием мутации в гене *KRAS*. Показано, что увеличение стадии от II к IV сопровождалось повышением частоты выявления ЦОК и доли больных с уровнем ЦОК выше 3. Умеренная и низкая степени дифференцировки опухоли сопряжены с наличием ЦОК в периферической крови и их уровнем выше 3-х клеток. Наличие метастатического поражения лимфоузлов и печени в несколько раз повышало вероятность выявления ЦОК. В случае наличия слабой лимфоцитарной инфильтрации и лимфоваскулярной инвазии в опухоли частота выявления ЦОК также была выше. Автором показано, что присутствие в опухоли мутации гена *KRAS* и уровень ЦОК более 5 клеток обуславливает со 100% вероятностью развитие метастатического поражения печени в течение 18-24 мес. у больных III стадии.

В **четвертой главе** проведена сравнительная оценка показателей системного иммунитета при наличии и отсутствии ЦОК вне зависимости от стадии заболевания, так и с ее учетом. Результаты исследования показали, что циркуляция опухолевых клеток в кровотоке сопровождается изменениями, характеризующими супрессию врожденного и адаптивного иммунитета и дальнейшему прогрессированию рака ободочной кишки.

В **пятой главе** проведен анализ экспрессии маркеров ОСК и ЭМП в опухолевой ткани. Автором проанализированы полученные данные экспрессии во взаимосвязи с различными клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Показано, что наиболее часто клинико-морфологические характеристики опухоли демонстрировали статистически значимую связь с экспрессией CD44 (по 10 параметрам), наименьшую – с ZEB1 (по 6 параметрам). Показано сопряжение экспрессии маркеров ОСК и ЭМП и количеством ЦОК в периферической крови. Глава хорошо

иллюстрирована, содержит убедительные визуальные подтверждения различного уровня экспрессии маркеров ОСК и ЭМП в опухолевой ткани.

Шестая глава посвящена анализу иммунофенотипических характеристик опухолевых клеток и их иммунологического микроокружения при различной распространенности опухолевого процесса. Показано, что опухолевые клетки, с фенотипом стволовых формируют иммуносупрессивное иммунологическое микроокружение, различное в зависимости от своих количественных и качественных характеристик.

В седьмой главе оценивается профиль транскрипционной активности микроРНК и уровень экспрессии генов-мишеней в опухолях больных раком ободочной кишки II-IV стадий, а также профиль транскрипционной активности микроРНК в ЦОК. У больных IV стадии выявлено максимальное количество изменений профиля микроРНК и экспрессии генов-мишеней в опухолевой ткани относительно нормальной. Методом биоинформационного анализа было показано участие выявленных микроРНК в регуляции эпителиально-мезенхимального перехода и стволовоклеточного опухолевого потенциала. Анализ профиля экспрессии микроРНК в ЦОК продемонстрировал однонаправленность изменений в сравнении с опухолевой тканью, за исключением hsa-miR-26a-5p, уровень экспрессии которой автор предлагает использовать в качестве дифференциального критерия наличия регионарных и отдаленных метастазов в сравнении с их отсутствием.

В восьмой главе представлена прогностическая значимость изученных параметров для оценки общей выживаемости и риска отдаленного метастазирования у больных раком ободочной кишки, отобраны наиболее значимые из них. Итогом являются разработанные модели прогноза развития летального исхода заболевания, риска и сроков развития отдаленного метастазирования, часть из которых подтверждена патентами РФ.

В Заключении приводится квинтэссенция всего исследования, сравниваются полученные автором результаты с данными мировой

литературы. Автор провела глубокий анализ полученных результатов и получила ответы на поставленные задачи.

Выводы и практические рекомендации отражают задачи исследования, подтверждают полученные результаты и являются руководством к действию для специалистов. Работа грамотно оформлена и написана, свидетельствует о хорошей клинической и научной подготовке автора.

Автореферат содержит краткое изложение основных положений диссертации и соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней».

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования Новиковой И.А. могут быть использованы в клинической практике онкологических учреждений, а также могут быть рекомендованы к использованию в учебном процессе преподавания на различных этапах подготовки специалистов.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний к изложению и содержанию диссертационной работы нет.

Заключение

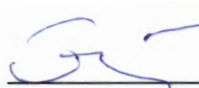
Диссертационная работа Новиковой Инны Арнольдовны «Биологическая роль и прогностическая значимость клеточных и молекулярных характеристик рака ободочной кишки», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1. .1.6 – Онкология, лучевая терапия, является серьезным научным исследованием, в котором на основании полученных результатов решена актуальная научная проблема, заключающаяся в установлении закономерностей взаимодействия опухоли и организма на различных уровнях,

что вносит дополнительный вклад в разработку концепции прогрессирования заболевания и позволяет прогнозировать его течение на основе разработанных прогностических алгоритмов риска летального исхода и отдаленного метастазирования.

Научный труд Новиковой Инны Арнольдовны полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016, №1168 от 01.10.2018, №1539 от 11.09.2021), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент: Заведующий патологоанатомическим отделением Общества с ограниченной ответственностью «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем имени Сергея Березина»,

доктор медицинских наук

 Раскин Григорий Александрович
« 17 » _____ 01 _____ 2023г.

Подпись доктора медицинских наук Раскина Григория Александровича «заверяю»

Генеральный директор Общества с ограниченной ответственностью «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем имени Сергея Березина»

.....  Архипкина Мария Михайловна

Адрес: 194354, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Есенина, д.2, корпус 3, лит А.

телефон (812) 244-04-14, факс (812) 244- 04-15; e-mail: histolab@ldc.ru