

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам.директора

ФГБУ «НМИЦ онкологии им.

Н.Н. Блохина» Минздрава России

по научной и инновационной работе

член-корр РАН, д.м.н., профессор



В.Б. Матвеев

2021 г.

ОТЗЫВ

О научной и практической значимости диссертационной работы Ибрагимовой М. К. на тему «Изменение генетического ландшафта опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии: связь с метастазированием», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология (биологические науки)

Актуальность темы диссертации

Диссертация Ибрагимовой Марины Константиновны посвящена актуальной проблеме - исследованию механизмов связи изменений CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии с метастазированием.

В настоящее время в качестве одного из важных компонентов лечения больных с операбельным раком молочной железы широко используется предоперационная или неoadъювантная химиотерапия (НАХТ), которая при наличии эффекта на первичную опухоль способствует проведению органосохранного лечения, помогает определить чувствительность к адъювантной химиотерапии, а при достижении полной морфологической регрессии определяет благоприятный исход заболевания. Клиническая эффективность НАХТ в зависимости от молекулярного подтипа и схем сильно колеблется и составляет от 35 до 85%. С одной стороны, НАХТ может элиминировать агрессивные клоны опухоли и тем самым снизить частоту метастазирования. С другой стороны, появляется все больше данных о том, что НАХТ, обладая, как и всякая химиотерапия, мутагенным действием, способна изменять генетический ландшафт опухоли, стимулируя эволюцию опухоли и появление метастатических клонов. Рак молочной железы относится, к так называемым С-опухолем, для которых характерно большое количество aberrаций числа копий (CNA-Copy Number Aberration) по всему геному, которые могут легко изменяться под действием внутренних и внешних факторов. В работе Ибрагимовой

М.К. была поставлена задача оценить изменения CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы, которые происходят под действием НАХТ и выявить какие изменения CNA ассоциированы с метастазированием.

Ибрагимовой М.К. была очень хорошо сформулирована рабочая гипотеза работы. Было высказано, обоснованное литературными данными, предположение о том, что развитие метастазов имеет высокую степень связанности с клональной эволюцией опухоли, в том числе и с клональной эволюцией в процессе лечения и рецидив или прогрессирование после ранее достигнутого эффекта обусловлены наличием резистентного клона, который существовал на момент начала терапии и после химиотерапии или возник в процессе проведения химиотерапии. В последнем случае, появившиеся новые клоны, обладают высоким метастатическим потенциалом и оценка их генетического ландшафта в сравнении с опухолью до лечения, покажет какие изменения генетического ландшафта действительно ассоциированы с метастазированием. В работе Ибрагимовой М.К. предполагалось выявить появления новых CNA под действием химиотерапии и их сопряженность с метастазированием. Если таковая подтверждается, то после этого аннотировать гены, локализованные в хромосомных регионах, найти общую систему, которая может участвовать в механизмах метастазирования и подтвердить ее роль в механизмах метастазирования. С решением этой задачи, Ибрагимова М.К. блестяще справилась, подтвердила рабочую гипотезу и выявила новые механизмы метастазирования опухолей и действие на них химиотерапии.

Таким образом, диссертационная работа Ибрагимовой М.К. является актуальной, посвящена решению задач с области одной из самых сложных проблем фундаментальной онкологии – изучению механизмов метастазирования опухолей.

Степень обоснованности и достоверности научных положения и выводов

В процессе работы над диссертацией было обследовано 60 больных люминальным В раком молочной железы, проходивших обследование/лечение в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Кроме этого, для подтверждения результатов исследования были использованы генетические данные по 8356 больным 17 локализаций проекта TCGA. В механистической части исследования использованы первичные культуры двух пациентов и стабильные клеточные культуры 7 линий. Материалом для основного исследования послужили биоптаты опухоли до проведения НАХТ и операционный материал этих пациентов после НАХТ. Патоморфологическое исследование опухолевого материала и биоптатов патологически измененной ткани в стандартном объеме было выполнено у всех пациентов. Все данные по пациентам сгруппированы в 8 базах данных,

на которые имеются регистрационные удостоверения. Методы молекулярно-генетического анализа, использованные в работе, в частности, выделение РНК и ДНК, обратнотранскриптная ПЦР в режиме реального времени для оценки экспрессии генов стволовости, микроматричный анализ на ДНК и РНК чипах и методы культуральной работы полностью адекватны поставленным задачам. Особое внимание в работе уделено статистическим и биоинформатическим методам анализа. Проведена аннотация генов и систем их представляющих. Для обработки результатов микроматричного анализа были использованы специализированные программы. Достоверность статистической обработки результатов при помощи программы Statistica не вызывает сомнения. Все это позволило проанализировать очень большой массив данных и корректно их представить.

Основные положения диссертации доложены на 30 конференциях регионального, Российского и международного уровней и опубликованы в 18 полноценных статьях, из них 12 статей в зарубежной печати, в том числе 6 статей Q1 и 4 статьи Q2 (по данным Scopus). Кроме того, зарегистрирована 2 патента по теме диссертации. Научная работа Ибрагимовой М.К. соответствует паспорту научной специальности 14.01.12 Онкология (биологические науки) п. 2 «Исследования по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.)».

Таким образом, исследования были выполнены на достаточном материале, проведен тщательный статистический анализ, использованы современные и адекватные методы, результаты работы всесторонне обсуждены на конференциях и широко опубликованы в Российской и зарубежной печати. В этой связи достоверность полученных выводов и закономерностей не вызывает сомнения.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В представленной диссертации Ибрагимовой М.К. блестяще доказана и обоснована рабочая гипотеза, сформулированная во введении к работе. Впервые был установлен феномен негативного влияния НАХТ на CNA-генетический ландшафт опухоли молочной железы, которая вызывает у части пациентов появление новых амплификаций, ассоциированных с резким усилением метастазирования. Аннотация генов, локализованных в хромосомных регионах, амплифицируемых в процессе НАХТ, показала, что единственной системой, гены которой представлены во всех этих регионах являются гены системы индукции и поддержания стволового фенотипа клеток и самообновления или гены стволовости, всего в этих регионах локализовано 48 генов стволовости. Анализ данных проекта TCGA позволил установить, что 2 и более амплификации разных хромосомных регионов этих генов ассоциированы с

метастазированием при 17 разных локализациях. Автором была выдвинута очень оригинальная гипотеза о роли этих генов в процессе метастазирования. В частности, предполагалось, что за счет амплификаций генов стволовости, опухолевые клетки приобретают способность к стволовой пластичности и дифференцированные опухолевые клетки могут дедифференцироваться до стволовых. Это было доказано в экспериментах *in vitro*, в которых только дифференцированные опухолевые клетки с амплификациями генов стволовости обладали такой способностью, в то время как опухолевые клетки без амплификаций генов стволовости не могли дедифференцироваться. Проведенный экспрессионный и транскриптомный анализы подтвердили, что при амплификации генов стволовости и у пациентов с развившимися впоследствии метастазами, значительно повышена экспрессия генов стволовости. Иначе говоря, амплификации локусов генов стволовости, обеспечивают их эктопическую экспрессию в опухолевых клетках и делают их способными к дедифференцировке и потенциальной возможности формирования метастатических колоний.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основе полученных результатов получены доказательства роли амплификаций генов стволовости в способности опухоли к метастазированию. Введен новый процесс – стволовая пластичность, в метастатический каскад опухоли, который, с одной стороны, объясняет почему не каждая опухоль метастазирует, с другой стороны, открывает новые возможности для таргетирования этого процесса в плане разработки противометастатических препаратов. С практической точки зрения работа Ибрагимовой М.К. открывает новые возможности для персонализированной терапии рака молочной железы, для определения целесообразности назначения предоперационной терапии. Если опухоль не имеет амплификаций генов стволовости, то она не будет метастазировать и подвергать ее НАХТ не нужно, поскольку она может стимулировать появление новых клонов с амплификациями. Для таких пациентов достаточно оперативное удаление опухоли. Напротив, пациенты с амплификациями генов стволовости в обязательном порядке должны подвергаться предоперационной химиотерапии, поскольку имеется достаточно существенная вероятность элиминации опухолевых клонов с амплификациями и предотвращения, тем самым метастазирования. Это очень оригинальный подход, который, конечно, требует проспективной валидации. Нет сомнения в том, что исследования будут продолжены и легитимность такого подхода будет доказана в будущих работах Ибрагимовой М.К.

В пользу высокой практической значимости работы говорит также зарегистрированный патент «Способ прогнозирования безметастатической выживаемости

у больных раком молочной железы на основе экспрессии генов сомато-стволового перехода в резидуальной опухоли после предоперационной терапии» Патент RU № 2682879 от 22 марта 2019. Кроме того, результаты работы внедрены в учебный план автономной магистерской программы «Трансляционные химические и биомедицинские технологии» Томского государственного университета по курсу «Молекулярная онкология».

Оценка содержания работы

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 196 страницах, включает 37 рисунков и 15 таблиц. Список литературы содержит 477 источников.

Во введении автор обосновывает актуальность исследуемой проблемы, формулирует цель и задачи исследования, характеризует научную новизну работы, ее теоретическую и практическую значимость. Представлены основные положения работы, которые автор выносит на защиту. Цель работы сформулирована четко, обозначено 7 задач, решение которых необходимо для достижения указанной цели. Замечаний по этому разделу работы нет.

Первая глава работы "Литературный обзор" состоит из 3-х параграфов и заключения, которые посвящены освящению литературных данных по: CNA-генетическому ландшафту опухоли молочной железы и его изменению в процессе неoadьювантной химиотерапии, опухолевым стволовым клеткам при раке молочной железы и генам индукции и поддержания плюрипотентности при раке молочной железы. Завершает литературный обзор заключение, в котором кратко подводятся итоги и констатируется актуальность исследований. В целом, глава литературный обзор очень хорошо изложена, и содержит самые современные данные и большое количество литературных ссылок. Замечаний по этому разделу работы нет.

Вторая глава посвящена объекту и методике исследования, приводится клиническая характеристика больных. Показаны клинико-патологические характеристики больных: приводятся данные по возрасту, менструальному статусу, TNM, гистологической типу и гистологической форме, молекулярному подтипу, схеме НАХТ и эффекту НАХТ. Все клинико-патологические параметры пациентов описаны в зарегистрированных базах данных. Тщательно прописаны процедуры забора биоматериала, выделения РНК и ДНК из проб, методика исследования ДНК и РНК на микроматрице CytoScan HD Array (Affymetrix, USA), методика клеточных исследований

очень подробно и тщательно описаны статистические процедуры. Принципиальных замечаний по главе нет.

В третьей главе представлены результаты и обсуждения собственных исследований автора. Автор последовательно решает задачи, и тщательно описывает и обсуждает полученные результаты. Все результаты обоснованы и их достоверность не вызывает сомнения.

В заключении отмечаются наиболее важные результаты исследования, акцентируется внимание на возможных объяснениях полученных закономерностей и констатируется новизна полученных данных, формулируется гипотеза о роли стволовой пластичности в метастатическом каскаде. В целом, эта часть, это большой задел для будущей работы диссертанта. Диссертацию завершают 8 выводов. Выводы соответствуют задачам работы, основаны на фактических данных, полученных соискателем, достаточно четко сформулированы и возражений не вызывают.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертации нет.

Автореферат соответствует содержанию работы.

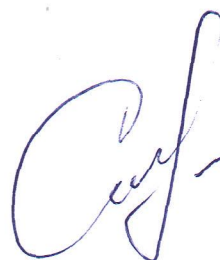
Имеют место стилистические ошибки, встречаются отдельные грамматические погрешности. В целом они не умаляют большую научную и практическую значимость работы.

Заключение

Диссертационная работа Ибрагимовой Марины Константиновны является законченным самостоятельным научным квалифицированным исследованием, в результате которого решена актуальная проблема современной онкологии – изучено изменение CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы в процессе неoadьювантной химиотерапии и выявлен новый ключевой процесс метастатического каскада, который обусловлен амплификациями генов стволовости. По методическому уровню, актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа М.К. Ибрагимовой представляет значительный вклад в развитие молекулярной онкологии и соответствует лучшим мировым аналогам. Диссертационная работа М.К. Ибрагимовой соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации 24 сентября 2013 г., № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу Ибрагимовой Марины Константиновны
обсужден и утвержден на заседании Ученого совета НИИ канцерогенеза ФГБУ
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России от «18» мая 2021 г. (протокол № 4).

Зав. лабораторией вирусного канцерогенеза
НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский
центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
кандидат биологических наук



К.В. Смирнова

Подпись Смирновой К.В. «заверяю»
Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им.
Н.Н. Блохина» Минздрава России,
кандидат медицинских наук



И.Ю. Кубасова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Адрес: Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе д.24

8(499) 324-11-14

E-mail: info@ronc.ru

<http://www.ronc.ru/>