

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук, доцента, Владимира Викторовича Стрельникова на диссертационную работу Уткина Дмитрия Олеговича «Клиническое значение гиперметилированных генов микроРНК и растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 при раке яичников», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность

Рак яичников (РЯ) в структуре заболеваемости среди женского населения в России занимает пятое место (4,9%), а в структуре смертности занимает 6 место (6,2%). В абсолютных числах ежегодно от рака яичников погибает около 8000 женщин.

РЯ характеризуется бессимптомным клиническим течением, ранней диссеминацией по париетальной и висцеральной брюшине, образованием напряженного асцита. С целью повышения эффективности диагностики и лечения РЯ необходимо исследование новых молекулярных маркеров для разработки эффективных методов диагностики. Взаимодействие между рецептором программируемой клеточной смерти PD-1, и его лигандом PD-L1 – ключевая контрольная точка иммунитета, которую используют опухолевые клетки для уклонения от иммунного ответа. Блокада контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 усиливает противоопухолевый иммунитет за счет подавления регуляторных (супрессорных) Т-клеток и восстановления эффекторных Т-клеток.

В настоящее время актуален поиск новых механизмов и факторов, способных влиять на содержание PD-1/PD-L1 в опухолях, среди которых важную роль могут играть микроРНК, ингибирующие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне.

В последнее время в рамках разработки способов эффективного прогноза и лечения больных РЯ проводится широкий скрининг генов и некодирующих РНК для выявления потенциальных маркеров общей и безрецидивной выживаемости. В мировой литературе работ, в которых проанализирована возможность применения уровня метилирования генов микроРНК как маркера выживаемости РЯ, пока нет.

Таким образом, решение различных задач, направленных на повышение эффективности диагностики и оценки прогноза РЯ, определяет своевременность и актуальность работы Уткина Д.О. «Клиническое значение гиперметилированных генов микроРНК и растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 при раке яичников».

Научная новизна

Научная новизна диссертационной работы Уткина Д.О. не вызывает сомнений. На достаточном клиническом материале автором получены оригинальные данные по исследованию растворимых форм контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1, уровней метилирования и экспрессии генов микроРНК. Уровни sPD-1 возрастают при наличии диссеминатов опухоли по брюшине размером более 1 см, а показатели sPD-L1 в плазме крови отражают стадию заболевания, наличие асцита.

Впервые у больных РЯ выявлено повышение уровня метилирования 11 из 14 генов микроРНК в первичной опухоли; показана ассоциация гиперметилирования генов *MIR-124a-2*, *MIR-125b-1*, *MIR-127* с прогрессированием РЯ и стадиями заболевания. Кроме того, уровни метилирования генов микроРНК *MIR-124a-2*, *MIR-34b*, *MIR-9-1*, *MIR-9-3*, *MIR-339* в опухоли связаны значимой линейной зависимостью с концентрациями sPD-L1 в плазме крови больных РЯ, наиболее тесной с *MIR-124a-2*. Многофакторный анализ показал, что стадия заболевания и уровни sPD-1 следует считать независимыми факторами прогноза при РЯ.

Достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и практических рекомендаций

Диссертационная работа Уткина Д.О. основана на достаточном по объему клиническом материале, включающем в себя результаты лечения 93 пациенток. Сбор, систематизация и анализ полученной информации соответствовали современным требованиям, предъявляемым к подобного рода исследованиям. Математическая обработка данных осуществлялась с использованием современных программных пакетов.

Высокий научно-профессиональный уровень проведения исследования и изложения полученных данных дает основание считать результаты, представленные исследователем, достоверными.

Выполненная работа дает ответы на многие важные практические вопросы современной диагностики рака яичников и повышения эффективности прогнозирования течения заболевания, в основе которых лежат определение групп риска неблагоприятного прогноза при исследовании растворимых форм контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1, а также уровня метилирования генов микроРНК.

Выводы и практические рекомендации логичны и полностью обоснованы полученными результатами. Их обоснованность подтверждается реальной практической реализацией.

Научно-практическая значимость и внедрение результатов исследования

Результаты, полученные в ходе исследования, позволили Уткину Д.О. сформулировать практические рекомендации по клиническому применению лабораторных маркеров в качестве оценки прогноза безрецидивной выживаемости больных раком яичников.

Автором проведена оценка отдаленных результатов лечения РЯ. Показано, что значимыми факторами неблагоприятного прогноза 3-летней безрецидивной выживаемости больных раком яичников следует считать концентрации sPD-1 в плазме крови более 50 пг/мл, а sPD-L1 более 22 пг/мл. Кроме того, целесообразно определение до начала лечения уровня метилирования генов микроРНК *MIR-9-1*, *MIR-124a-2* в ткани опухоли с помощью метода количественной метилспецифичной ПЦР с детекцией в реальном времени, так как повышенные уровни этих маркеров являются независимыми факторами, связанными с низкими показателями 3-летней безрецидивной выживаемости больных раком яичников

Основные положения диссертационного исследования Уткина Д.О. были представлены на научных заседаниях, конгрессах и форумах, в том числе с международным участием. Результаты, полученные соискателем, внедрены в учебную и практическую деятельность ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа оформлена в традиционном виде на 168 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, три главы собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Литературный указатель включает 203 источника. Диссертация содержит 33 иллюстрации, 62 таблицы.

Во введении автор излагает общее состояние изучаемой темы, определяет научную новизну, практическую значимость работы и положения, выносимые на защиту, обосновывая необходимость своих исследований.

Первая глава - обзор литературы – основана на анализе современных (последние 5 лет) публикаций и позволяет получить достаточно полное

представление о текущем состоянии рассматриваемых аспектов диагностики и лечения больных раком яичников. Автором подробно описаны современные методы диагностики и лечения, а также общие сведения о микроРНК и их роли в патогенезе рака яичников, сведения о PD-1 и PD-L1 при онкологических заболеваниях, в частности при РЯ.

Обзор литературы изложен последовательно, доступным языком. Автору удалось в достаточной мере раскрыть современное состояние проблемы диагностики и лечения РЯ, а также описать актуальность и обоснованность исследования растворимых форм контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 при РЯ, а также микроРНК как диагностических маркеров РЯ.

Во второй главе представлены общая характеристика выборки больных, основные методы исследования, принципы статистической обработки полученных данных. Исследование было проспективным.

Третья глава отражает анализ содержания маркеров sPD-L1, sPD-L1 в плазме крови больных опухолями яичников разных групп, связь с данными анамнеза обследованных больных и групп контроля, а также основными клиническими характеристиками заболевания.

В ходе исследования автором показано, что повышение концентрации sPD-L1 связано с размерами первичной опухоли, наличием асцита и отдаленных метастазов, а значимое повышение sPD-1 наблюдали при диссеминации опухоли по брюшине и увеличении стадии заболевания по критерию T.

В четвертой главе автором проведен анализ уровней метилирования и экспрессии группы генов микроРНК в ткани опухоли и метастазов больных раком яичников. Проанализирована связь с клиническими факторами заболевания и прогрессией заболевания.

Были получены данные, свидетельствующие о важной роли метилирования генов регуляторных онкосупрессорных микроРНК в опухолях больных РЯ.

Кроме того, получены данные, что некоторые микроРНК могут быть ингибиторами лиганда контрольной точки иммунитета.

В главе 5 «Отдаленные результаты лечения больных злокачественными опухолями яичников» автор проводит исследование ассоциаций безрецидивной выживаемости больных РЯ с клиническими факторами, уровнями метилирования микроРНК, с учетом концентраций sPD-1 и sPD-L1.

Автором выявлены клинически неблагоприятные концентрации sPD-1, при которых значительно снижена безрецидивная выживаемость больных РЯ.

В «Заключении» автор представляет ключевые моменты каждого из разделов диссертации и подводит итоги своему научному исследованию. Заключение построено логично в соответствии с результатами исследований, изложенными в других главах.

Выводы и практические рекомендации четко сформулированы, обоснованы и логично вытекают из результатов собственных исследований автора и полностью отражают суть поставленных задач.

Основные данные проведенного исследования опубликованы в научной печати, доложены на научных конференциях

Существенные недостатки у работы Уткина Д.О. отсутствуют, однако имеется несколько вопросов, на взгляд рецензента, недостаточно освещённых в тексте диссертации:

- 1) Какая гипотеза легла в основу работы по изучению ассоциации метилирования и экспрессии генов микроРНК с концентрациями растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки sPD-1 и его лиганда sPD-L1?
- 2) Автором выявлены статистически значимые отличия концентраций рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в плазме крови здоровых женщин и больных доброкачественными опухолями, при этом различия между пограничными, доброкачественными и

злокачественными опухолями яичников не значимы. То есть, пограничные, доброкачественные и злокачественные опухоли близки по показателям концентраций sPD-1 и sPD-L1, но из них только злокачественные достоверно отличаются от нормальных показателей. Хотелось бы более подробного обсуждения этих результатов.

- 3) Применялась ли при статистической обработке данных поправка на множественное тестирование?

Перечисленные вопросы никак не влияют на общую высокую оценку работы и не снижают ее научной и практической ценности.

Заключение

Диссертационная работа Уткина Дмитрия Олеговича «Клиническое значение гиперметилированных генов микроРНК и растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 при раке яичников» представляет собой законченное, научно-квалификационное исследование, выполненное на высоком научном и методическом уровне с использованием современных методов, в котором на основании выполненных автором исследований осуществлено решение научной проблемы повышения эффективности диагностики и оценки прогноза рака яичников.

По совокупности представленных диссертантом положений и выводов данная работа может быть квалифицирована как имеющее важное значение в клинической онкологии.

По своей актуальности, новизне, уровню и объему выполненных исследований, важности полученных результатов и их практической значимости, диссертационная работа Уткина Д.О. полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842

от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01, созданный на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России.

Заведующий лабораторией эпигенетики
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Медико-генетический научный
центр имени академика Н.П. Бочкова»,
доктор биологических наук, доцент (03.02.07 – генетика)

Стрельников Владимир Викторович

«17» октября 2023г.

Подпись д.б.н., доцента В.В. Стрельникова «Заверяю»:
Ученый секретарь ФГБНУ «Медико-генетический научный
центр имени академика Н.П. Бочкова»,
кандидат медицинских наук

Воронина Екатерина Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
Адрес: 115522, г. Москва, ул. Москворечье, дом 1. Тел: 8-499-612-86-07, mail: mgnc@med-gen.ru.

