

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Баировой Татьяны Ананьевны на диссертационную работу Марковского Александра Викторовича «Патогенетическая роль полиморфизма генов фолатного цикла и аминотиолов при пролиферативных заболеваниях молочной железы», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Несмотря на достижения современной медицины, рак молочной железы (РМЖ) является основной причиной онкологической смертности женского населения как в развитых, так и в развивающихся странах. На сегодняшний день РМЖ рассматривается как сложное полигенное заболевание, в основе которого лежит комбинированный эффект генов разных метаболических систем. В том числе генов фолатного цикла, определяющих вариативность метаболизма фолиевой кислоты и детерминирующих тем самым нестабильность генома за счёт нарушения процессов метилирования ДНК, что вероятно запускает и поддерживает механизмы канцерогенеза. Идентификация аллельных вариантов генов-кандидатов фолатного метаболизма как предикторов доброкачественных и злокачественных образований молочной железы является перспективным направлением, позволяющим существенно повысить эффективность оценки риска развития мутагенного процесса. Весьма вероятно, что некоторые генетические факторы имеют большое самостоятельное значение, однако до настоящего времени не существует информации для окончательных выводов.

С указанных позиций диссертация Марковского А.В., посвященная изучению патогенетической роли аллельного полиморфизма генов белков фолатного обмена и закономерностей изменения концентрации аминотиолов в развитии пролиферативных заболеваний молочной железы, представляет значительный научный и практический интерес.

**Научная новизна.** В диссертационном исследовании Марковского А.В. впервые описаны особенности содержания аминотиолов в сыворотке крови и в опухолевой ткани молочной железы у больных пролиферативными заболеваниями молочной железы, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов фолатного метаболизма, а также морфологической и иммуногистохимической верификации опухоли. Показано, что концентрация глутатиона и глутамилцистеина в опухолевой ткани молочной железы зависит от стадии РМЖ. Отмечено, что максимальное повышение концентрации сывороточных тиолов наблюдается в группе с редкими формами рака и HER2neu+ подтипом РМЖ, а в опухолевой ткани молочной железы при смешанном гистотипе и

базальном типе РМЖ.

Показано, что аллель *MTR2756A* и генотип *MTHFR1298AC*, а в большей степени их комбинация *MTHFR1298ACxMTR2756A*, повышают риск развития доброкачественных образований молочной железы, а развитие смешанной, редких форм и люминального В подтипа рака молочной железы имеет ассоциативную связь с носительством аллеля *MTHFR677T*, преимущественно в гомозиготном варианте.

Диссертантом впервые описано, что увеличение содержания глутатиона в крови и снижение гомоцистеина в опухолевой ткани при доброкачественных образованиях молочной железы зависит от присутствия в геноме *MTRR66G*-аллеля, а увеличение концентрации гомоцистеина как в ткани молочной железы, так и в сыворотке крови при РМЖ связано с носительством *MTR2756G*-аллеля. Носительство выявленных предиктивных генотипических комплексов при пролиферативных заболеваниях молочной железы значительно увеличивает концентрацию гомоцистеина в сыворотке крови и в опухолевой ткани молочной железы.

Впервые выявлено, что комплексное носительство генотипов *MTHFR1298AAxMTR2756AG* и *MTHFR677TTxMTHFR1298AAxMTRR66GG* ассоциировано с развитием доброкачественных образований молочной железы, а *MTR2756AGxMTRR66AG* и *MTHFR677CTxMTHFR1298AAxMTR2756AGxMTRR66AG* – с развитием РМЖ. В то же время отмечено, что количество рискованных аллелей *MTHFR(C677T)*, *MTHFR(A1298C)*, *MTR(A2756G)* и *MTRR(A66G)* в геноме не влияет на развитие пролиферативных заболеваний молочной железы. Разработана многофакторная модель прогнозирования развития доброкачественных образований молочной железы в зависимости от изучаемого полиморфизма генов белков фолатного обмена.

Выявлено влияние аддитивного эффекта носительства генетического полиморфизма генов метаболизма фолатов на уровень гомоцистеина, причем повышающее – в сыворотке у больных РМЖ и понижающее – в опухолевой ткани пациенток с доброкачественными образованиями молочной железы, а также ассоциация между экспрессией иммуногистохимических маркеров (HER2-neu и Ki-67) и уровнем сывороточных аминокислот, что, несомненно, имеет практическую направленность, которая может быть реализована в прогнозировании течения опухолевого процесса.

Таким образом, полученные в данной диссертационной работе результаты, безусловно, обладают научной новизной, а научные положения и выводы представляются весомыми и научно обоснованными.

#### **Теоретическая и практическая значимость**

Результаты диссертационного исследования Марковского А.В. несомненно имеют научную и практическую значимость. Автором представлены новые данные, позволяющие



расширить существующие представления о патогенетической взаимосвязи носительства полиморфизма генов фолатного метаболизма *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G) и *MTRR*(A66G), клинико-морфологических, иммуногистохимических показателей, а также содержания аминотиолов в крови и опухолевой ткани при пролиферативных заболеваниях молочной железы. Определены рискованные комбинации генотипов, ассоциированные с повышенным риском развития доброкачественных образований молочной железы – это сочетания генотипов *MTHFR*1298ACx*MTR*2756AAx*MTRR*66AG, *MTHFR*1298ACx*MTR*2756AAx*MTRR*66GG и *MTHFR*677CCx*MTHFR*1298ACx*MTR*2756AAx*MTRR*66AG, а также рака молочной железы – это *MTHFR*677CCx*MTHFR*1298CCx*MTRR*66AA-комплекс. Установлены новые патогенетически значимые закономерности изменения содержания аминотиолов в сыворотке и в опухолевой ткани молочной железы, а именно - отмечено, что максимальное повышение концентрации сывороточных тиолов наблюдается в группе с редкими формами рака и HER2neu+ подтипом РМЖ, а в опухолевой ткани молочной железы – при смешанном гистотипе и базальном типе РМЖ.

Результаты исследования демонстрируют целесообразность внедрения в клиническую онкологическую практику персонализированной оценки риска развития доброкачественных образований и некоторых подтипов рака молочной железы на основе определения носительства аллелей и генотипов полиморфизма генов фолатного цикла и индивидуального генетического индекса. Такой подход позволит проводить первичный отбор и формирование групп повышенного генетического риска возникновения пролиферативных заболеваний молочной железы, требующих углубленного обследования и консультации узких специалистов, а также оптимизировать профилактические и диагностические мероприятия.

С учетом найденных генетических предикторов автором разработана прогностическая модель риска развития доброкачественных образований молочной железы с последующей ее реализацией в клиническую практику маммологов, акушер-гинекологов и онкологов. Материалы диссертации можно рекомендовать для использования в образовательном процессе медицинских вузов в виде методических пособий и лекций.

#### **Степень достоверность и обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

Все научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации аргументированы и обоснованы, что подтверждается материалами, отраженными в диссертации. Цели и задачи диссертационного исследования сформулированы четко и корректно. Исследование проведено по плану, соответствующему современным научным требованиям. Представленный объем материала и его качество являются достаточным для

решения поставленных задач, формулировки выводов и рекомендаций. Отмечается высокий методический уровень проведенных исследований, достаточный объем клинического материала, тщательная его статистическая обработка. Выносимые на защиту положения в полной мере обоснованы автором. Выводы, соответствуют поставленной цели и задачам исследования, вытекают из содержания работы и достаточно аргументированы. Практические рекомендации могут быть использованы в научной и клинической практике.

### **Практические рекомендации**

Результаты исследования по изучению патогенетической роли полиморфизма генов фолатного метаболизма *MTHFR*C677T, *MTHFR*A1298C, *MTR*A2756G, *MTR*RA66G и их комбинаций, а также особенностей содержания гомоцистеина, цистеина и глутатиона в сыворотке крови и опухолевой ткани молочной железы при пролиферативных заболеваниях молочной железы внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность кафедр патологической физиологии и онкологии ФГБОУ ВО “Читинская государственная медицинская академия”, а также в лечебно-диагностическую работу хирургического отделения опухолей молочной железы ГУЗ “Забайкальский краевой онкологический диспансер” г. Читы.

### **Общая характеристика содержания диссертации, ее завершенность**

Работа построена по традиционному плану в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Рецензируемый научный труд состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам и методам исследований, собственным результатам, обсуждению полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и включает 49 таблиц, 5 рисунков и 2 схемы патогенеза. Библиографический указатель содержит 176 источников, среди которых 19 отечественных и 157 зарубежных авторов. Диссертация написана доступным языком. Результаты исследования представлены в материалах научных конференций различного уровня.

Во введении автор обосновывает актуальность избранной темы, четко формулирует цель, задачи исследования, а также научную новизну, практическое значение работы и положения, выносимые на защиту. Отражен личный вклад автора и освещены публикации по теме диссертации.

В первой главе проведен анализ отечественных и зарубежных публикаций, посвященных изучаемой проблеме и содержащих сведения о патогенетической роли фолатного обмена и нарушений метаболизма гомоцистеина в развитии заболеваний, а также эпидемиологии, факторах риска развития доброкачественных образований и рака молочной железы. В обзоре литературы особое внимание уделено вопросам, изучения



связи полиморфизма генов фолатного метаболизма с риском развития пролиферативных заболеваний молочной железы в различных странах, в том числе и в России. Литературный обзор характеризуется последовательностью изложения, достаточной критичностью.

Во второй главе дана подробная характеристика групп больных и контроля, отобранных для исследований. Представлен дизайн исследования, обоснован выбор методик для изучения молекулярно-генетических характеристик (*MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G) и *MTRR*(A66G)) и аминокислотного статуса в группах сравнения, с учетом клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей опухоли. Сравнительный анализ показателей включал оценку межгрупповых и внутригрупповых различий исследуемых признаков.

В третьей главе приведены результаты сравнительного анализа генетических и биохимических показателей у женщин с доброкачественными образованиями и раком молочной железы, а также морфологических и иммуногистохимических особенностей РМЖ. Автор отмечает, что пролиферативные, преимущественно злокачественные заболевания молочной железы, в большей мере у пациенток старше 40 лет сопровождаются увеличением концентрации гомоцистеина, глутатиона, глутамилцистеина в сыворотке крови и содержания глутатиона и глутамилцистеина в опухолевой ткани молочной железы. В работе показано, что у пациенток с РМЖ концентрация гомоцистеина, глутатиона и глутамилцистеина в сыворотке крови и глутатиона в ткани опухоли молочной железы варьирует в зависимости от гистологического типа опухоли, а содержание глутатиона и глутамилцистеина в опухолевой ткани молочной железы зависит от стадии заболевания. Концентрация гомоцистеина и глутатиона в сыворотке крови у больных РМЖ прямо соотносится с содержанием цистеинилглицина в ткани молочной железы.

Обнаружены определенные изменения характеристик опухолевого метаболизма в зависимости от наличия в геноме предикторных комбинаций изучаемых генотипов: у пациенток с доброкачественными образованиями молочной железы носителей *MTHFR*1298AAx*MTR*2756AG-комплекса и у больных РМЖ носителей комбинаций *MTR*2756AGx*MTRR*66AG и *MTHFR*677CTx*MTHFR*1298AAx*MTR*2756AGx*MTRR*66AG увеличивается концентрация сывороточного гомоцистеина. Сочетанное носительство генотипов *MTHFR*677TTx*MTHFR*1298AAx*MTRR*66GG у страдающих доброкачественными образованиями молочной железы сопровождается повышением концентрации сывороточного глутатиона, а носительство комплекса *MTHFR*677CTx*MTHFR*1298AAx*MTR*2756AGx*MTRR*66AG у больных РМЖ – содержания гомоцистеина и цистеина в опухолевой ткани. В то же время, автор обращает внимание на снижение концентрации гомоцистеина в опухолевой ткани пациенток с доброкачественными образованиями молочной железы при увеличении индивидуального генетического индекса.

Четвертая глава представляет краткую характеристику исследования с обсуждением его результатов. Оцениваются полученные результаты в сопоставлении с данными последней литературы, дается научная трактовка основных результатов собственного исследования и выявленных в ходе него различий и особенностей при доброкачественных образованиях и раке молочной железы.

Диссертация заканчивается 7 выводами и практическими рекомендациями. Выводы сформулированы четко и адекватно, отражают основные задачи проведенных исследований. Предложенные диссертантом практические рекомендации, сформулированы на основании полученных результатов, логичны и последовательны.

#### **Характеристика публикаций автора по теме диссертации**

Основные положения диссертации отражены в 11 научных работах, из них 5 статей в изданиях, определенных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 6 тезисов в сборниках международных, российских научных конференций, конгрессов и съездов.

#### **Соответствие автореферата диссертации основным положениям диссертации**

Автореферат и опубликованные по теме исследования работы полностью отражают содержание диссертации.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями п. 9 «Положения» ВАК, написана грамотным литературным языком, легко читается. Результаты изложены последовательно. Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

В ходе ознакомления с диссертацией возник ряд вопросов:

1. Почему в исследовании выбраны гены фолатного цикла?
2. Уточните расовую и этническую принадлежность взятых в исследование женщин.
3. Считаете ли Вы отмеченные молекулярно-генетические особенности, а также закономерности в изменении лабораторных характеристик в сыворотке крови и опухолевой ткани у больных пролиферативными заболеваниями молочной железы характерными только для изучаемой популяции региона?

#### **Заключение**

Диссертация Марковского Александра Викторовича «Патогенетическая роль полиморфизма генов фолатного цикла и аминотиолов при пролиферативных заболеваниях молочной железы», выполненная под руководством кандидата медицинских наук, доцента Н.Н. Страмбовской и научном консультировании доктора медицинских наук, профессора Ю.А. Витковского, является самостоятельной законченной научно-исследовательской работой, имеющей существенное значение для развития медицинской науки и практики, в которой содержится решение научно-практической задачи – выявление патогенетического



значения носительства аллельного полиморфизма генов белков фолатного обмена и закономерностей в изменении содержания аминотиолов при доброкачественных образованиях и раке молочной железы.

Диссертационная работа по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018 г.), а именно пунктам 2, 5, 6 и 9 паспорта специальности 14.03.03 – патологическая физиология, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

**Официальный оппонент:**

руководитель лаборатории персонализированной медицины  
ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья  
семьи и репродукции человека»,  
доктор медицинских наук

Баирова Татьяна Ананьевна

На обработку персональных данных согласна Баирова Баирова Т.А.

Данные о докторе медицинских наук  
Баировой Татьяне Ананьевне заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ  
«Научный центр проблем здоровья  
семьи и репродукции человека»,  
кандидат биологических наук

Рашидова Мария Александровна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научный центр проблем  
здоровья семьи и репродукции человека",  
Адрес: 664003, Иркутская область, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16  
Тел: 8 (3952) 207-636.  
Электронная почта: tbaierova38@mail.ru



Подпись *Баировой*  
удостоверяю  
Начальник отдела  
кадров *М. Александровна*



«24» апреля 2020 г.