

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Дворниченко Викторией Владимировны 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

Работа Марковского А.В. посвящена самому распространённому онкологическому заболеванию у женщин во всём мире – раку молочной железы (РМЖ). Несмотря на значительные успехи, достигнутые в понимании причин возникновения, факторов риска развития, патогенеза, профилактики и лечения карцином молочной железы, высокий рост заболеваемости РМЖ сохраняется во многих странах. По данным последних десятилетий рак молочной железы гетерогенен и объединяет ряд подтипов, отличающихся своими факторами риска и прогнозом заболевания. Генетическая предрасположенность к раку молочной железы также гетерогенна и обусловлена мутациями не только с высокой и средней пенетрантностью, но и однонуклеотидными полиморфизмами с низкой пенетрантностью.

В группе SNP с низкой пенетрантностью активно изучаются полиморфизмы генов, связанные с изменением активности ключевых ферментов фолатного цикла и нарушениями в процессах метилирования ДНК, что может способствовать неопластической трансформации. К сожалению, результаты таких исследований, имеющиеся в настоящее время противоречивы и не позволяют определить единые подходы к диагностике и прогнозу РМЖ, что в большей мере обусловлено недостаточным пониманием особенностей патогенеза этого заболевания с учетом носительства различных комбинаций генов-кандидатов, в том числе фолатного метаболизма. Точная оценка генетического риска позволит персонализировать программы профилактики и лечения, а также снизить смертность от рака молочной железы.

Поэтому исследование А.В. Марковского А.В., посвященное изучению патогенетической роли полиморфизма генов фолатного цикла и аминотиолов при пролиферативных заболеваниях молочной железы, является весьма актуальным и, несомненно, имеет научную и практическую значимость.

Оценка научной новизны положений, выводов и рекомендаций, сформированных в диссертации

В диссертационном исследовании Марковского А.В. последовательно решается ряд важнейших патогенетических задач, касающихся раскрытия роли полиморфизма генов белков фолатного цикла и закономерности изменения концентрации аминотиолов в развитии пролиферативных заболеваний молочной железы. Отмечу наиболее интересные, на мой взгляд,

разработки диссертационного исследования, имеющие элементы научной новизны.

Впервые установлено, что аллель *MTR2756A* и генотип *MTHFR1298AC*, 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*. Отмечено, что количество рисковых аллелей *MTHFR(C677T)*, *MTHFR(A1298C)*, *MTR(A2756G)* и *MTRR(A66G)* в геноме не влияет на развитие пролиферативных заболеваний молочной железы.

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 генетического 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.

Впервые обнаружено, 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.

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 аминотиолов, что, несомненно, имеет практическую направленность, которая может быть реализована в прогнозировании течения опухолевого процесса.

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

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационная работа Марковского А.В. имеет важную теоретическую и практическую значимость. В результате проведенного исследования выявлены новые закономерности изменения концентрации

аминотиолов в сыворотке крови и опухолевой ткани молочной железы при развитии опухоли у пациентов с доброкачественными образованиями и раком молочной железы. Установлены различия молекулярно-генетических (предиктивных комбинаций генотипов) и сывороточных маркеров (гомоцистеина, цистеина и глутатиона) у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями молочной железы относительно контроля, которые позволят предложить новые алгоритмы дифференциальной диагностики и прогноза для больных, в том числе специфичные для различных гистологических и молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы. 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.

Автором описаны патогенетические механизмы влияния полиморфизма генов фолатного метаболизма и аминотиолов при доброкачественных образованиях и раке молочной железы. Выявленные рискованные комбинации генотипов *MTHFR1298ACxMTR2756AA*, *MTHFR1298ACxMTR2756AAxMTRR66AG*, *MTHFR1298ACxMTR2756AAxMTRR66GG*, *MTHFR677CCxMTHFR1298ACxMTR2756AAxMTRR66AG* у пациенток с ДОМЖ и *MTHFR677CCxMTHFR1298CCxMTRR66AA*-комплекса, у больных раком молочной железы, характеризующие предрасположенность к этому заболеванию, позволят улучшить раннюю диагностику данных пациентов, а также определить прогноз и индивидуальную тактику наблюдения. Для выявления риска развития ДОМЖ с помощью математической модели в дополнение к стандартному обследованию автором предложено определять полиморфизм генов фолатного метаболизма *MTHFR(C677T)*, *MTHFR(A1298C)*, *MTR(A2756G)* и *MTRR(A66G)*.

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

Убедительность полученных результатов и выводов определяется достаточным объемом и качеством проведенных исследований с использованием современных клиничко-лабораторных и генетических методов исследования, которые приведены и подробно описаны в работе. Для решения поставленных задач диссертационной работы используется комплекс генетических, клиничко-морфологических и лабораторных методов исследования, что повышает уровень достоверности полученных данных. Исследование проведено на 182 исследуемых, с выделением двух подгрупп пациентов, содержащих достаточное для статистической обработки количество наблюдаемых. Автор достаточно корректно использует известные научные методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций.

Адекватная статистическая обработка материала обеспечила надежность интерпретации данных и является логичным и необходимым звеном между поставленными задачами и выводами. Статистическая обработка выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины. Получены статистически значимые различия по частоте носительства изучаемых аллелей и генотипов, индивидуальному генетическому индексу, содержанию аминотиолов, в том числе в зависимости от наличия в геноме рискованных аллелей.

Степень обоснованности основных научных положений диссертации определяется постановкой цели исследования, требующей установить роль аллельного полиморфизма генов белков фолатного обмена, а также закономерности изменения концентрации аминотиолов в развитии пролиферативных заболеваний молочной железы. Выводы и результаты, полученные диссертантом, обоснованы и достоверны; они опираются на данные полученных результатов исследования, их обработку, данные статистического анализа материала.

Общая характеристика содержания диссертации, ее завершенность

В соответствии с обоснованной актуальностью автор выбирает структуру работы таким образом, чтобы достичь поставленной цели исследования и решить все сформулированные для ее достижения задачи. В этой связи логичной выглядит структура работы, состоящая из введения, четырех разделов (первый включает обзор литературы, вторая глава - материалы и методы исследования, третий и четвертый посвящены результатам собственных исследований и их обсуждению), выводов, практических рекомендаций, списка используемой литературы. Работа Александра Викторовича Марковского имеет завершенный характер и традиционную структуру.

Во введении для наиболее полного раскрытия заявленной темы сформулирована цель диссертации, ее задачи, положения на защиту. В частности, целью исследования является установление роли аллельного полиморфизма генов белков фолатного обмена, а также закономерности изменения концентрации аминотиолов в развитии пролиферативных заболеваний молочной железы.

Достижение цели автором осуществляется поэтапно, в каждом из разделов своей работы он проводит исследования, позволяющие выйти на конечный результат, содержащий научную новизну и решение поставленной цели. Первый раздел представляет собой обзор литературы, в котором раскрыты современные представления об фолатном обмене в клетке, причинах повышения гомоцистеина в сыворотке крови и опухолевой ткани, изменение представлений о синдроме «гипергомоцистеинемии» с момента его описания в 1932 г. до расшифровки генетической составляющей в медицинской практике.

Действительно, в настоящий момент в научной литературе имеется очень мало данных о распространенности генетических вариантах

полиморфизма генов белков фолатного обмена в различных популяциях, не уточнены клинико-морфологические особенности данных мутаций. Анализ литературы показал актуальность выбора темы диссертации, поэтому исследование, проведенное А.В. Марковского, является своевременным.

Во второй главе «материалы и методы исследования» подробно представлена характеристика групп пациентов с разделением на подгруппы больных с доброкачественными образованиями и раком молочной железы. Для решения поставленных задач, диссертантом выбраны адекватные и современные методы исследования - полиморфизм генов фолатного обмена *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G) и *MTRR*(A66G) определен методом полимеразной цепной реакции, исследование биохимических показателей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Собственные результаты исследований с обсуждением представлены в третьей и четвертой главах. Детально описаны генетические и клинико-биохимические характеристики пациентов в зависимости от полиморфизма генов фолатного обмена *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G) и *MTRR*(A66G). В такой же логике изложения написан раздел, посвященный характеристике морфологических и иммуногистохимических свойств опухоли у пациенток с РМЖ. В многочисленных таблицах представлены результаты исследования показателей состояния метаболизма гомоцистеина в сыворотке и опухолевой ткани молочной железы (гомоцистеин, цистеин, глутатион) у пациенток с пролиферативными заболеваниями молочной железы. Проведен анализ корреляционных связей лабораторных и генетических показателей каждой группы. В обсуждении автором обобщены полученные данные, сопоставлены с данными литературы и проанализированы.

Диссертация изложена на 160 страницах компьютерного текста, написана литературным языком, ее материалы изложены доходчиво. В работе представлено 49 таблиц и 5 рисунков (не включая 2 схемы патогенеза), иллюстрирующих полученные результаты. Список литературы содержит 19 отечественных и 157 иностранных источников.

Работа Марковского А.В. имеет заверченный характер с логичным и последовательным изложением, каждый раздел собственных данных сопровождается выводом и объяснением дальнейшего этапа исследования. Выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Очевидно, что соискатель проделал значительную работу, которая свидетельствует о достаточной квалификации его как научного работника, а полученные новые клинико-лабораторные данные открывают перспективу дальнейших научных исследований по проблеме изучения патогенеза пролиферативных заболеваний молочной железы. Используемые лабораторно-генетические методы и патогенетический характер исследования определяют диссертационное исследование, как соответствующее шифру специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 5 статей в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации. Автореферат в полном объеме раскрывает содержание диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Одним из важных достоинств диссертации А.В. Марковского является возможность практического использования полученных результатов. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии и онкологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, а также в лечебно-диагностическую работу хирургического отделения опухолей молочной железы ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер» г. Читы.

Материалы и выводы диссертации могут использоваться учеными-интернистами, врачами разных специальностей в учебной и клинической работе. На основании полученных данных возможно составление методических рекомендаций для практического здравоохранения.

Возникшие в ходе рецензирования вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационной работы А.В. Марковского нет.

С целью дискуссии предлагаются следующие вопросы:

1. Сравнима ли частота носительства искомым мутаций у больных раком молочной железы в изучаемой группе Забайкальской популяции с общепопуляционными показателями?
2. Какие из исследованных генетических и биохимических показателей крови у пациентов с пролиферативными заболеваниями молочной железы могут быть использованы в качестве прогностических маркеров?

Заключение

Диссертация Марковского Александра Викторовича на тему: «Патогенетическая роль полиморфизма генов фолатного цикла и аминотиолов при пролиферативных заболеваниях молочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - патологическая физиология, является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной научной задачи по установлению патогенетической роли полиморфизма генов фолатного цикла и аминотиолов при пролиферативных заболеваниях молочной железы, имеющее существенное значение для медицинской науки и практики.

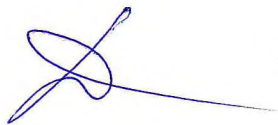
Диссертационная работа по своей актуальности, методическому уровню, степени новизны, научной и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикации материалов в научных печатных изданиях полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых

степеней), утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями от 01.10.2018 г.), пунктам 2, 5, 6 и 9 паспорта специальности 14.03.03 - патологическая физиология, а ее автор заслуживает присуждение искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - патологическая физиология.

На обработку и размещение моих персональных данных в сети (интернет) согласна.

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой онкологии и лучевой терапии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Иркутский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор медицинских наук,
профессор



Виктория Владимировна Дворниченко

Подпись д.м.н., профессора Дворниченко В.В. заверяю:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 664003, Иркутская область, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

Тел.: 8 (3952) 214-200

Электронная почта: vv.dvornichenko@gmail.com

«27» апреля 2020 г.

