

РЕЦЕНЗИЯ

на диссертационную работу Жумакаевой Айнуры Маратовны
на тему: «Роль экспрессии H-Ras онкобелка в эффективности
неoadьювантной химиотерапии рака молочной железы»,
представленную на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D110100 «Медицина»

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами (запросами практики и развития науки и техники).

Снижение риска преждевременной смертности от онкологических заболеваний является одним из целевых индикаторов «Программы развития здравоохранения Республики Казахстан на 2020-2025 годы» и соответствует общенациональным показателям эффективности стратегического и бюджетного планирования, обозначенным в Стратегии развития Казахстана до 2050 года.

По данным статистики, заболеваемость раком молочной железы в Казахстане занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической патологии и непрерывно растет. В связи с этим актуальным направлением современной медицины является углубленное исследование научных и клинических данных относительно молекулярного профиля каждого типа опухоли, включая, не только оценку ДНК и РНК, но также и оценку уровня экспрессии белков иммуногистохимическим методом, что и было сделано в данной диссертационной работе.

Область молекулярного профилирования раковых опухолей претерпела революционные изменения за последние несколько лет - по мере развития знаний, технологий и даже стандартной клинической практики. Определение индивидуального молекулярного профиля опухоли, сфокусированное на терапевтически значимых опухолевых маркерах сейчас необходимо на практике для всех пациентов с опухолями. Методологии молекулярного профилирования изменились настолько, что методы диагностики, которые проводились на пациентах несколько лет назад, больше не являются полными и, возможно, являются неточными. Молекулярное профилирование постепенно становится стандартной практикой для большинства пациентов, заменив историческую парадигму лечения назначением стандартной химиотерапии, основанной на происхождении опухоли и стадии. Этот подход позволил онкологам реорганизовать свои представления о раке и дать рекомендации по лечению.

В настоящее время фокус внимания смещается на геномные изменения, которые могут служить в качестве биомаркеров как прогноза ответа (указывающего на опухоль и исход/реакцию пациента на специфическую терапию), так и прогноза пациента (описывающего агрессивность врожденной опухоли, которая согласуется с выживанием пациента независимо от полученного лечения).

Онкогенная активация изоформ RAS приводит к возникновению и прогрессированию опухоли при многих видах рака и приобретает все больший

интерес в качестве мишени для новых терапевтических стратегий. Исследования, проведенные в начале 1990-х годов, показали, что в 71% случаев рака молочной железы человека экспрессия белков RAS была выше, чем в нормальных тканях молочной железы, и коррелировала с таковой HER-2. Интерес к исследованию роли RAS в онкогенезе длительное время был подорван тем, что экспериментальные исследования раковых клеток и мышинных моделей продемонстрировали, что онкогены RAS и их мутации имеют сильный потенциал в инициации и прогрессировании рака молочной железы, как и в других типах рака, клинические же исследования показали, что частота онкогенных мутаций RAS при раке молочной железы человека незначительна, что резко контрастирует с другими видами рака.

Десятилетия исследований позволили раскрыть первостепенную роль онкогенов RAS в ведущей инициации опухоли при многих типах рака. По причинам, которые до сих пор неизвестны, рак молочной железы не входит в их число. Хотя онкогенный RAS способен трансформировать клеточные линии рака молочной железы *in vitro*, предельная частота мутаций RAS в клинических исследованиях не всегда подчеркивает первичную роль белков RAS в этиологии опухолей молочной железы. Тем не менее, множество исследований, проведенных за многие годы, продемонстрировали важность функции RAS в прогрессировании, метастазировании и резистентности к терапии при раке молочной железы, независимо от молекулярного триггера, которым они иницированы, тем самым способствуя участию белков RAS, в том числе и H-RAS, в онкогенезе рака молочной железы.

Все эти положения определяют актуальность выбранного направления диссертационной работы Жумакаевой А.М.

Диссертационная работа соответствует приоритетным направлениям развития науки и здравоохранения, которые реализуются в Республике Казахстан и посвящена актуальной проблеме диагностической значимости экспрессии H-Ras онкобелка в эффективности неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы.

2. Научные результаты в рамках требований к диссертациям.

Диссертационная работа написана в классическом варианте. Во введении сформулированы цель и задачи исследования, представлена научная новизна и практическая значимость. Положения, выносимые на защиту, отражают основные результаты исследования. Диссертационная работа изложена на 108 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения, и приложений. Содержит 218 использованных источников. Работа проиллюстрирована 20 таблицами и 37 рисунками.

В разделе «Обзор литературы» диссертант анализирует современные представления о молекулярно-биологических маркерах рака молочной железы, описывает роль семейства RAS в онкогенезе злокачественных новообразований, исследует HRAS при раке молочной железы и раскрывает роль и ценность ингибиторов фарнезилпротеинтрансферазы. Рассматривая роль

ингибиторов фарнезилпротеинтрансферазы, диссертант отмечает, несмотря на то, что ингибиторы фарнезилтрансферазы не потеряли своей актуальности при лечении, на сегодняшний день не существует четких рекомендаций по назначению этих препаратов при H-Ras экспрессирующем раке молочной железы, что требует дальнейшего разъяснения посредством проведения дополнительных исследований в перспективе.

В разделе «Материалы и методы исследования» отражены материалы и методы исследования. Для реализации поставленных задач был предложен дизайн исследований и сформированы 2 группы обследуемых с установленным биологическим типом рака молочной железы: 55 человек группы сравнения с отрицательной экспрессией H-Ras онкобелков и 45 пациентов с положительной экспрессией H-Ras онкобелков. В этом же разделе достаточно подробно приведено описание иммуногистохимических методов исследования, дана характеристика лекарственных препаратов неоадьювантной лекарственной терапии, описаны критерии оценки ее эффективности и методика оценки лекарственного патоморфоза опухоли, также указаны статистические методы.

В третьем разделе автором представлены результаты по исследованию влияния H-Ras онкобелков на эффективность неоадьювантной лекарственной терапии у пациентов с раком молочной железы. Диссертантом показано, что положительная экспрессия H-Ras чаще встречалась у пациентов с HER-2neu позитивным раком и высоким индексом пролиферативной активности Ki-67, а отрицательная экспрессия H-Ras статистически значимо преобладала у пациентов с люминальным типом A и отсутствием экспрессии ER, PR, HER-2neu. Также показано, что положительная экспрессия H-Ras ухудшает показатели безрецидивной выживаемости. На основании полученных данных предложена прогностическая модель периода безрецидивной выживаемости.

В 4 разделе автором проводится обсуждение результатов исследования, представлены наиболее важные результаты диссертационного исследования.

Выводы и практические рекомендации отражают итоги диссертационного исследования. Наглядные материалы результатов исследования представлены в виде таблиц, диаграмм и рисунков в доступной форме.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого результата (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

Обоснованность и достоверность каждого результата (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации определяется достаточным объемом материала и современными информативными методами исследования. Проведено ретроспективное иммуногистохимическое исследование с целью оценки экспрессии H-RAS биопсийного материала до лечения и гистологических образцов рака молочной железы в результате лекарственного воздействия различными режимами предоперационной терапии. Для оценки иммуногистохимической реакции

экспрессии шкала иммунореактивности Remmele и Stegner с морфометрией относительного количества положительно окрашенных клеток.

Исследование проведено в три этапа. На первом этапе всем пациентам проведены морфологическая и иммуногистологическая верификации, анализ уровня экспрессии H-Ras, распределение на группу сравнения и исследуемую группы и рандомизация на режим неоадьювантной терапии.

На втором этапе проведена неоадьювантная терапия оценена ее неросредственная эффективность и определен уровень H-Ras после её проведения.

На заключительном этапе проведена оценка отдаленных результатов лечения и построена прогностическая модель неблагоприятного прогноза рака молочной железы.

Оценка экспрессии H-RAS в каждой из выбранных групп проводилась в подгруппах, сформированных в зависимости от схемы лечения (доксорибицин+циклофосфан, доксорибицин+циклофосфан +арглабин, арглабин).

Первый научный результат, основан на данных комплексного сравнения исследуемых групп по уровню экспрессии H-Ras, Her2neu и Ki-67. Установлено, что экспрессия H-Ras выявленная до начала неоадьювантной лекарственной терапии чаще встречалась у пациентов с Her2neu позитивным раком и высоким уровнем индекса пролиферативной активности Ki-67. Достаточную степень обоснованности и достоверности первого результата определяют непосредственные результаты исследования.

Второй научный результат обоснован проведением тщательной оценки патоморфоза опухолей и оценки общего эффекта прогрессии заболевания в зависимости от экспрессии H-Ras.

Высокую степень обоснованности и достоверности *третьего научного результата* обуславливают показатели безрецидивной выживаемости в группах с положительной и отрицательной экспрессией H-Ras.

Четвертый научный результат подтверждается данными показателей безрецидивной выживаемости в группах с положительной и отрицательной экспрессией H-Ras в зависимости от добавления в схему лечения препарата Арглабина.

Пятый научный результат основан на расчете математической модели, доказывающей взаимосвязь между периодом безрецидивной выживаемости и уровнем экспрессии H-Ras, что позволило рекомендовать её в качестве прогностической для оценки риска рецидива заболевания, что имеет безусловное значение для прикладной медицины.

Таким образом, методический подход при подборе материала, условия проведения исследования, применяемые современные информативные методики убеждают в основательности проведенной научной работы.

Достоверность проведенного исследования обеспечена результатами исследования, информативными методами диагностики и статистического анализа. Выводы не вызывают сомнений, так как они основываются на полученных и установленных фактических данных, согласуются с

содержанием и результатами диссертации, ее целью и задачами, отличаются единством и логической завершенностью.

4. Степень новизны каждого научного результата (положения) и вывода диссертанта, сформулированных в диссертации.

Первый вывод является частично новым, так как методом иммуногистохимического исследования был подтвержден ранее установленный факт корреляции между экспрессией H-Ras белков и Her2neu позитивным типом рака молочной железы, а также выявлена связь экспрессии H-Ras белков с высоким индексом пролиферативной активности Ki67.

Второй вывод является новым, автором установлено, что экспрессия H-Ras отрицательно влияла на непосредственную эффективность неоадьювантной лекарственной терапии. У пациентов с отрицательной экспрессией частота общего эффекта была ниже на 24,1%, а прогрессирование заболевания на 22,2% ниже, чем у пациентов в исследуемой группе с положительной экспрессией H-Ras ($p < 0,05$).

Третий вывод является новым, автором установлено, что экспрессия H-Ras отрицательно влияла на показатели безрецидивной выживаемости.

Четвертый вывод является новым, автором установлено что у пациентов с положительной экспрессией H-Ras, в результате терапии препаратом Арглабин, отмечается статистически значимое увеличение безрецидивной выживаемости до $16,5 \pm 1,1$ месяцев по сравнению со стандартным режимом АС ($13,5 \pm 1,1$ месяцев) ($p < 0,05$), добавление Арглабина к стандартному режиму АС также увеличивало этот показатель до $16,4 \pm 1,2$ месяцев ($p < 0,05$).

Пятый вывод является новым, автором установлено, что при положительном Her2neu и высоким уровнем H-Ras (9-12 баллов) период безрецидивной выживаемости составил 16,98 месяцев, при умеренной степени выраженности H-Ras (6-8 баллов) – 21,33 месяца, при низкой степени H-Ras – 25,68 месяцев. Прогностический период безрецидивной выживаемости при отрицательной экспрессии H-Ras онкобелков (0-3 балла) и положительных рецепторах Her2neu составил 32,00 месяца. Отрицательная экспрессия в обоих случаях сопровождалась более коротким периодом безрецидивной выживаемости согласно прогностической модели.

5. Оценка внутреннего единства полученных результатов.

Диссертационная работа характеризуется внутренним единством, все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны; научные положения, полученные результаты и рекомендации соответствуют поставленным целям и задачам. Исходя из актуальности темы и анализа научной литературы диссертантом обосновывается необходимость проведения данного исследования, а также применение методов статистической обработки. Основные положения, выводы и полученные результаты логически вытекают из цели и задач работы, обосновывают практическую значимость выбранного направления исследования.

6. Направленность полученных соискателем результатов на решение соответствующей актуальной проблемы, теоретической и прикладной задачи.

Практическая значимость полученных результатов определяется тем, что полученные данные могут быть дополнительным диагностическим методом у пациентов с раком молочной железы при выборе неоадьювантной лекарственной терапии и предсказании рецидива.

Результаты работы внедрены в практическую деятельность иммуногистохимической лаборатории КГП «Областной онкологический диспансер» г. Караганда, патологоанатомического отделения ГКП на ПХВ «Многопрофильный медицинский центр» г. Нур-Султан, получено свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданное комитетом Министерства юстиции РК №3990 от 11 июня 2019г.

7. Подтверждение достаточной полноты публикаций основных положений, результатов, выводов и заключения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них: 3 в научных изданиях рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК; 2 публикации в международном научном издании, входящем в информационную базу Scopus – «Georgian Medical News», «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences»; 5 публикации в материалах международных конференции; 3 публикации в материалах зарубежных конференции

Получено 1 свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданное комитетом Министерства юстиции РК №3990 от 11 июня 2019г.

Таким образом, количество и объем публикаций соответствует предъявляемым требованиям и достаточен для освещения результатов и основных положений диссертации научной общественности.

8. Соответствие аннотации содержанию диссертации.

Аннотация соответствует содержанию диссертации и содержит краткое изложение актуальности, целей и задач, основных положений, выносимых на защиту, а также результатов исследований.

9. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации.

Диссертация написана в традиционном стиле, с соблюдением требований, предъявляемых при оформлении диссертационных работ. По содержанию имеются не принципиальные замечания, рекомендации и вопросы для дискуссии, которые не меняют общей положительной оценки диссертации:

1. С какой целью наряду со шкалой IRS дополнительно используется количество позитивно окрашенных клеток при анализе полученных данных?
2. Почему в модели прогноза вы используете уровень экспрессии H-Ras в соответствии с баллом IRS, а не по количеству позитивно

окрашенных клеток?

3. Определялась ли статистическая значимость между количеством позитивно окрашенных H-Ras клеток до и после неоадьювантной терапии?
4. В чем заключалось личное участие автора диссертационной работы при проведении иммуногистохимического исследования?
5. Каким образом проводилось определение иммуногистохимической экспрессии H-Ras белка: «слепым методом» или с использованием клинической информации о принадлежности к группам исследования, одним или несколькими исследователями?
6. При проведении иммуногистохимического исследования и оценке экспрессии H-Ras проводился ли расчет чувствительности и специфичности?
7. Какое практическое применение могут иметь результаты данного исследования в практической деятельности онкологов и онкоморфологов при диагностике и лечении рака молочной железы?
8. В работе имеется ряд грамматических, орфографических ошибок и опечаток.

Замечания не принципиальны, не снижают актуальности, научной и практической значимости диссертационной работы, выводов и носят рекомендательный характер.

10. Заключение о возможности присуждения степени доктора философии (PhD) по соответствующей специальности.

Диссертационная работа Жумакаевой А.М. на тему: «Роль экспрессии H-Ras онкобелка в эффективности неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы» является самостоятельным и завершенным исследованием, в котором изложены фактические данные, характеризующие экспрессию H-Ras онкобелка при различных схемах неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы и разработана математическая модель прогнозирования безрецидивной выживаемости пациентов с раком молочной железы.

Диссертационная работа Жумакаевой А.М. представленная на соискание степени доктора философии (PhD) представленная на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 - «Медицина», по своей актуальности, объему, содержанию, методическому уровню исследований, научной новизне и практической значимости обоснованности выводов соответствует требованиям Правил присуждения степеней, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 - «Медицина».

РЕЦЕНЗЕНТ,

доктор медицины PhD,

заведующий патологоанатомическим

блоком клиники НАО «МУК»

