

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
о научно-практической значимости диссертационной работы
Бабышкиной Наталии Николаевны
«Прогностическая и предсказательная значимость молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с PI3K/Akt/mTOR- сигнальным путем при раке молочной железы»,
представленной к защите на соискание ученой степени доктора
медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология

Актуальность темы диссертационного исследования

Выявление активированных при канцерогенезе сигнальных путей и подавление их активности является одной из актуальных задач современной системной и таргетной терапии. Сигнальный путь, опосредованный PI3K, играет ключевую роль в патогенезе различных злокачественных новообразований, в том числе, рака молочной железы. Существуют данные, свидетельствующие о том, что изменение активности PI3K/Akt/mTOR сигнального каскада влияет на устойчивость опухолей к химиотерапевтическим и гормональным препаратам. Рак молочной железы по своей биологической природе является гетерогенным заболеванием. При этом изменения компонентов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в опухолях молочной железы разных биологических подтипов остаются малоизученными. Следовательно, с фундаментальной точки зрения, актуальным является изучение особенностей функционирования компонентов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR при разных типах рака молочной железы. С практической точки зрения перспективным является поиск маркеров на их основе с целью прогнозирования течения и исхода заболевания, а также оценки эффективности противоопухолевого лечения. В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Бабышкиной Н.Н. имеет не только большое теоретическое, но и практическое значение, а актуальность темы работы не вызывает сомнения.

Научная новизна

Основу данных составили результаты исследования сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в двух биологически и клинически разных группах пациентов с раком молочной железы – эстроген-зависимой и эстроген-независимой. В качестве элементов PI3K/Akt/mTOR выбраны не только рецепторные киназы и центральные эффекторы каскада, но и трансмембранные гликопротеины и эстрогеновые рецепторы, которые вовлечены в регуляцию активности PI3K/Akt/mTOR. Интегративный подход позволил продемонстрировать специфические закономерности изменений элементов изучаемого каскада в данных группах больных и выявить новые маркеры, определяющие эффективность химиотерапевтического и гормонального лечения.

Автором впервые проведен подробный генетический и экспрессионный анализ рецепторных киназ, внутриклеточных эффекторов и регуляторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR у больных с люминальным А и В, а также трижды негативным типом рака молочной железы. В исследовании впервые представлена характеристика фенотипа опухолевых клеток для каждого биологического типа рака молочной железы по экспрессии маркеров CD44/CD24 совместно с экспрессией рецепторных киназ и PTEN. Кроме того, впервые проведена оценка маркеров сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в зависимости от эффективности лечения у больных эстроген-зависимым и эстроген-независимым раком молочной железы и разработаны подходы к обоснованию выбора системной терапии и повышения ее эффективности для этих категорий пациентов.

Сформирована концепция механизмов реализации чувствительных и резистентных фенотипов эстроген-зависимых и эстроген-независимых опухолей, в основе которых лежит изменение активности PI3K/Akt/mTOR при участии исследуемых элементов каскада.

Практическая значимость работы

Диссертационное исследование Н.Н. Бабышкиной позволило обнаружить специфические генетические и белковые изменения элементов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR для изучаемых биологических типов рака молочной железы.

По итогам работы выявлены потенциальные прогностические маркеры, являющиеся значимыми факторами эффективного ответа на тамоксифен у больных эстроген-зависимым раком молочной железы – мутации гена эстрогенового рецептора *ESR1* rs2228480 и характер экспрессии эстрогеновых рецепторов; у больных люминальным А раком молочной железы – состояние регионарных лимфатических узлов, характер распределения эстрогеновых рецепторов и уровень экспрессии EGFR. Для больных с трижды негативным раком молочной железы определены факторы эффективности неoadьювантной химиотерапии, которые включают клинические параметры – возраст больных и белковые маркеры – уровень экспрессии VEGFR2 в опухоли до предоперационного лечения.

Применение результатов исследования в онкологической практике позволит осуществлять индивидуализированный выбор системной терапии у больных с разными биологическими подтипами рака молочной железы.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

В соответствии с поставленной целью исследования – разработка методологического подхода к предсказанию ожидаемой эффективности терапии и прогнозированию возможного исхода заболевания у больных с разными молекулярными подтипами РМЖ на основе комплексного анализа компонентов, ассоциированных с PI3K/Akt/mTOR сигнальным путем, автором сформулированы и обоснованы задачи исследования. Их успешному решению во многом способствовал широкий спектр современных молекулярно-генетических методов. Положения, выносимые на защиту, научно обоснованы, выводы логически вытекают из полученных результатов и являются

непосредственным итогом проведенного автором исследования. Достоверность полученных результатов подтверждена адекватно проведенной статистической обработкой материала.

Автор имеет 55 опубликованных работ по теме диссертации, из них 20 статей в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК. Стоит отметить, что материалы работы широко обсуждены на российских и международных конференциях и симпозиумах.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Полученные при проведении диссертационного исследования результаты важны для оценки молекулярного портрета разных биологических типов рака молочной железы, что позволяет персонализировано подойти к обоснованию выбора системной терапии.

Результаты диссертационной работы Бабышкиной Н.Н. могут быть рекомендованы для широкого круга специалистов: онкологов, патофизиологов, биохимиков, а также для преподавания соответствующих дисциплин в медицинских высших учебных заведениях.

Структура и общая характеристика диссертации

Материал диссертации изложен ясно, диссертация хорошо структурирована и оформлена. Работа изложена на 263 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 40 рисунками и 51 таблицей. Список цитированной литературы включает 405 источников, в том числе 6 отечественных и 399 зарубежных.

Во «Введении», основываясь на современном уровне знаний, автор убедительно обосновывает актуальность выбранного направления диссертационного исследования, четко и лаконично формулирует цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость представленной работы. Положения, выносимые на защиту, отражают результаты исследования и возражений не вызывают.

В главе «Обзор литературы» приводятся сведения о молекулярно-генетических механизмах чувствительности и резистентности к терапии тамоксифеном эстроген-зависимого рака молочной железы, дается оценка существующих факторов прогноза клинического течения и ответа на неoadьювантную химиотерапию эстроген-независимого рака молочной железы. В обзоре детально представлены данные о роли сигнального каскада PI3K/Akt/mTOR в механизмах резистентности эстроген-зависимого и эстроген-независимого рака молочной железы. Краткое заключение по представленному обзору литературы обоснованно определяет актуальность выбранного направления исследования.

Вторая глава – «Материалы и методы», содержит характеристику исследуемых групп с детализированным дизайном исследования. Методическая основа исследования Н.Н. Бабышкиной представлена комплексом молекулярно-генетических, иммуногистохимических и иммунологических методов, а также многоплановым статистическим подходом. Следует отметить, что наряду с традиционным определением экспрессии эстрогеновых рецепторов в опухоли был использован оригинальный подход к оценке их иммуногистохимического окрашивания, что позволило более подробно описать функциональный статус ER α .

В третьей главе работы «Результаты собственных исследований и их обсуждение» приводится описание новых фактов, установленных в результате проведенных собственных исследований. В частности, проведен сравнительный анализ генетических и белковых маркеров у больных раком молочной железы в зависимости от биологического типа опухоли, проанализирована их связь с

ответом на тамоксифен и прогностическая значимость. Установлено, что в эстроген-зависимых опухолях высокий уровень экспрессии активированной киназы Akt1 и клеток CD44⁺/IGF1R⁺, а также гетерогенный уровень экспрессии эстрогеновых рецепторов, являются критериями, определяющими резистентность к тамоксифену. Для опухолей люминального А типа в качестве маркеров резистентности определены мутации гена *IGFR1*, высокий уровень экспрессии EGFR и клеток с фенотипом стволовых CD44⁺/CD24^{-low}. Отмечена высокая частота встречаемости мутаций гена *ESR1* rs2228480 у больных с люминальным В раком молочной железы с прогрессированием на фоне лечения тамоксифеном. Автору удалось показать, что эффект от гормональной терапии тамоксифеном связан с мутацией гена *KDR* rs2305948, высоким уровнем генной и белковой экспрессии TGF-βRI, высоким процентом клеток CD44⁻/IGF1R⁻ и гомогенным характером экспрессии ERα в опухоли. Для двух исследуемых групп (эстроген-зависимый и люминальный А) разработаны математические модели прогноза риска прогрессирования заболевания на фоне гормональной терапии, включающие выявленные значимые маркеры. На следующем этапе автор анализирует уровень экспрессии рецепторных киназ, их генетические особенности у больных трижды негативным раком молочной железы в зависимости от проведенной неoadьювантной химиотерапии. Показана прогностическая значимость мутантных вариантов генов *EGFR* и *KDR* как маркеров неэффективного ответа на лечение. Автор связывает высокую частоту патоморфологического регресса и объективного клинического ответа у исследуемой группы больных с низким уровнем экспрессии в опухоли белковых продуктов данных генов. Кроме того, на основе полученных информативных маркеров разработана и валидирована модель предсказания эффективности предоперационной химиотерапии, которая включена в практические рекомендации диссертационной работы. В целом результаты диссертационной работы представлены корректно и убедительно, хорошо проиллюстрированы, полно и всесторонне обсуждены. Глава завершается описанием этапов использованной методологии системного анализа маркеров PI3K/Akt/mTOR с

обсуждением возможных механизмов формирования резистентности и чувствительности к терапии у больных эстроген-зависимым и эстроген-независимым раком молочной железы. Полученные в диссертационном исследовании Н.Н. Бабышкиной данные определяют вероятную патогенетическую роль белков семейств трансформирующего и сосудистого эндотелиального факторов роста в механизмах инактивации PI3K/Akt/mTOR при реализации эффективного ответа на тамоксифен. Показана преобладающая роль тирозинкиназ IGF1R и EGFR (причем как на уровне генотипа, так и фенотипа) в активации PI3K/Akt/mTOR при неэффективном ответе на тамоксифен. Определено ключевое значение генотипических (мутации *ESR1*) и фенотипических (характер экспрессии ER α .) особенностей эстрогенового рецептора в развитии резистентности к гормональному лечению. Автор рассматривает тирозинкиназы EGFR и VEGFR2 в качестве основных факторов, вовлеченных в механизмы химиорезистентности и химиочувствительности.

В заключении представлено не только полное резюмирование полученных результатов, но и их обсуждение с позиций современных научных представлений о предмете исследований.

Двенадцать выводов отражают основные результаты выполненного исследования и полностью соответствуют поставленным задачам.

Автором диссертации предложены практические рекомендации, использование которых позволит обосновать целесообразность назначения гормонального и химиотерапевтического лечения у больных с разными биологическими типами рака молочной железы.

Автореферат полностью соответствует диссертации, отражает ее содержание и дает представление об основных положениях работы.

Автору имело бы смысл уменьшить количество сокращений в формулировках задач, выводов и положений, выносимых на защиту. В тексте диссертации автор использует, на мой взгляд, ряд неудачных терминов и словосочетаний: экспрессия клеток, клинический ответ опухоли, клинико-морфологические параметры пациентов.

Принципиальных замечаний по работе не имею.

В целом, высоко оценивая работу, хотелось бы обсудить некоторые положения и задать вопросы:

1. Можно ли, на Ваш взгляд предположить, что выявленные закономерности и особенности PI3K/Akt/mTOR- сигнального пути при разных типах рака молочной железы будут отмечаться при злокачественных новообразованиях других локализаций?
2. С какими основными молекулярными механизмами, на Ваш взгляд, связано взаимодействие PI3K/Akt/mTOR- сигнального пути и рецепторного пути активации апоптоза в опухолевых клетках при раке молочной железы?

Заключение


Диссертационная работа Н.Н. Бабышкиной «Прогностическая и предсказательная значимость молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с PI3K/Akt/mTOR- сигнальным путем при раке молочной железы», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая проблема - выявлены новые маркеры сигнального пути PI3K/Akt/mTOR для прогнозирования течения и исхода заболевания, а также оценки эффективности противоопухолевого лечения у больных с разными биологическими типами рака молочной железы.

По объему и методологическому уровню выполненных исследований, научной новизне, практической значимости полученных результатов, количеству публикаций работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 с изменениями и дополнениями от 21 апреля 2016 года № 335, предъявляемым к

докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12-онкология.

Официальный оппонент

Профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии
с курсом клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук,
профессор



Елена Алексеевна Степовая



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
634050, г. Томск, Московский тракт, 2
Тел. 8 (3822) 909-823
email: rector@ssmu.ru