

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук доцента Бит-Сава Елены Михайловны на диссертационную работу Осиповой Александры Александровны на тему: «Клинико-диагностическая значимость метилирования длинных некодирующих РНК и микроРНК генов в прогнозе и лечении люминального рака молочной железы на ранних стадиях», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Актуальность темы выполненной работы

Рак молочной железы является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований у женщин и характеризуется выраженной клинической и молекулярно-биологической гетерогенностью. Несмотря на совершенствование методов диагностики и лечения РМЖ, у части пациенток с ранними стадиями заболевания сохраняется риск рецидива и прогрессирование опухолевого процесса. Особую сложность представляет прогнозирование индивидуального течения рака молочной железы. В настоящее время подходы к лечению данного заболевания основываются на оценке клинических, морфологических и иммуногистохимических характеристик опухоли. Однако, даже при одинаковой стадии и иммуногистохимическом подтипе заболевание может иметь различное клиническое течение.

В связи с этим актуальность диссертационной работы Осиповой А.А. обусловлена поиском дополнительных молекулярно-биологических маркеров, позволяющих более точно оценивать прогноз заболевания и совершенствовать подходы к динамическому наблюдению за пациентками, что является важным направлением современной онкологии и клинической лабораторной диагностики.

На сегодняшний день, особый интерес представляют изучение эпигенетических механизмов канцерогенеза, в частности метилирования генов некодирующих РНК. В диссертационной работе обоснованно выбран данный подход, поскольку микроРНК и длинные некодирующие РНК принимают участие в регуляции различных процессов опухолевой трансформации, а нарушение их

эпигенетической регуляции потенциально может быть связано с особенностями течения заболевания.

Актуальность исследования определяется также недостаточной изученностью прогностической роли метилирования конкретных генов микроРНК и днРНК при люминальном РМЖ ранних стадий.

Таким образом, тема диссертационной работы Осиповой А.А. является актуальной, имеет научное и практическое значение и соответствует современным направлениям развития клинической лабораторной диагностики в онкологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Научные положения диссертации основаны на результатах собственного исследования и логически вытекают из поставленных задач. В диссертационной работе проведен анализ значительного объема отечественной и зарубежной литературы, посвященной современным представлениям о молекулярной биологии рака молочной железы, микроРНК, длинных некодирующих РНК и эпигенетической регуляции экспрессии генов.

Методическая часть работы включает выделение ДНК, бисульфитную конверсию и проведение метил-специфичной ПЦР.

Для обработки результатов использованы статистические методы, корреляционный анализ, анализ выживаемости Каплан-Майера и регрессионный анализ Кокса.

Выводы соответствуют поставленным задачам и основаны на статистически достоверных результатах. Особенно убедительными представляются данные прогностического анализа. Метилирование MIR-191 и MIR-129-2 было связано с увеличением вероятности прогрессирования соответственно в 3,48 и 9,81 раза.

Практические рекомендации непосредственно основаны на полученных результатах и предусматривают использование статуса метилирования MIR-148a, MIR-191 и MIR-129-2 для оценки риска прогрессирования, а также MEG3 и SEMA3B-AS1 для оценки неблагоприятного прогноза.

Достоверность полученных результатов

Достоверность полученных результатов определяется объемом исследованного клинического материала, использованием современных методов молекулярно-биологического исследования, а анализ статистических данных, полученных

автором, произведен с использованием современных программ прикладного статистического анализа.

Научная новизна исследования

Впервые комплексно изучено метилирование генов микроРНК и длинных некодирующих РНК при люминальном раке молочной железы I-II стадий и сопоставлением полученных результатов с клиническим течением заболевания.

Автором исследован профиль восьми генов микроРНК MIR-129-2, MIR-1258, MIR-132, MIR-148a, MIR-191, MIR-212, MIR-34b/c, MIR-339. Показано, что при люминальном РМЖ I-II стадий в опухолевой ткани достоверно чаще метилированы MIR-129-2, MIR-1258, MIR-132, MIR-148a, MIR-34b/c и MIR-339, тогда как для MIR-212 и MIR-191 выявлена более низкая частота метилирования по сравнению с гистологически неизменной тканью. Так же обнаружена связь метилирования MIR-1258 с распространенностью опухолевого процесса: установлена положительная корреляция с клинической стадией (T) и состоянием регионарных лимфатических узлов (N).

При анализе метилирования длинных некодирующих РНК автором была выявлена положительная корреляция гена MEG3 с размером опухолевого процесса (T) и стадией заболевания.

Проанализировав результаты исследования, автором было установлено, что метилирование MIR-148a связано с ухудшением общей выживаемости. При метилировании MIR-191 и MIR-129-2 вероятность прогрессирования увеличивалась соответственно в 3,48 и 9,81 раза. Метилирование MEG3 и SEMA3B-AS1 также было связано с большей частотой прогрессирования.

Таким образом, новизна работы состоит не только в описании особенностей метилирования выбранных генов, но и в установлении их связи с распространенностью опухолевого процесса и отдаленными результатами наблюдения.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты проведенного исследования обладают высокой научной и практической значимостью, что обусловлено их вкладом в развитие современных подходов к диагностике и лечению рака молочной железы на ранних стадиях.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о роли эпигенетических изменений, в частности метилирования генов микроРНК и длинных некодирующих РНК, в биологии люминального рака молочной железы. Полученные результаты дополняют существующие представления о взаимосвязи метилирования генов некодирующих РНК с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и течением заболевания. Показанные ассоциации метилирования отдельных генов с распространенностью опухолевого процесса и показателями выживаемости позволяют рассматривать эпигенетические изменения как один из возможных механизмов, связанных с различиями в биологическом поведении люминального РМЖ.

Практическая значимость работы определяется возможностью использования полученных результатов для дополнительной оценки прогноза у пациенток с люминальным раком молочной железы ранних стадий.

На основании проведенного исследования автором выделены наиболее перспективные маркеры, связанные с риском прогрессирования заболевания. Определения статуса метилирования MIR-148a, MIR-191, MIR-129-2 предлагается использовать для дополнительной оценки риска прогрессирования и последующей стратификации пациенток. Парное определение метилирования MEG3 и SEMA3B-AS1 может быть использовано как дополнительный признак неблагоприятного прогноза.

Полученные результаты исследования имеют значение для дальнейшего изучения молекулярных механизмов прогрессирования люминального рака молочной железы и формирования индивидуальных особенностей течения заболевания, и могут применяться в клинической лабораторной диагностике и онкологии.

Оценка содержания диссертации и автореферата

Диссертация представлена на 154 страницах текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы состоит из 174 источников, из них – 160 зарубежных авторов. Диссертация включает 58 таблиц и 25 рисунков.

Во введении диссертации представлено подробное обоснование выбора темы исследования и её актуальности, раскрыта степень изученности рассматриваемой

проблемы и поставлены конкретная цель и задачи, что позволяет определить направленность и ожидаемые результаты работы. В разделе раскрываются положения, выносимые на защиту, а также сведения о проведенной апробации и внедрении результатов исследования в практическую деятельность.

В первой главе рассмотрены современные представления о молекулярной биологии РМЖ, микроРНК, длинных некодирующих РНК и их эпигенетической регуляции. Материал изложен последовательно и позволяет понять, почему автор остановился именно на метилировании выбранных генов.

В качестве небольшого замечания можно отметить, что отдельные разделы литературного обзора перегружены общими сведениями о биологии микроРНК и днРНК. Их можно было бы несколько сократить, и сконцентрироваться на тех генах, которые изучались в собственной работе.

Во второй главе подробно представлены клиническая характеристика материала и методы исследования. Указаны критерии формирования групп, приведена характеристика стадий заболевания, описаны молекулярно-биологические методы и статистический анализ. В главе представляется возможным проследить весь путь получения лабораторного результата – от исследованного материала до статистической оценки его клинического значения.

Важно отметить в качестве замечания ретроспективный характер исследования и длительный период формирования выборки. В связи с изменением подходов к диагностике и лечению РМЖ за период 1998-2016 гг. данный фактор необходимо учитывать при интерпретации показателей отдаленной выживаемости.

Третья глава является основной частью диссертации. Автор последовательно рассматривает частоту метилирования генов микроРНК и днРНК, их связь со стадией и другими клиничко-морфологическими характеристиками, а затем оценивает прогностическое значение выявленных изменений.

Интересным представляется переход от анализа отдельных молекулярных признаков к оценке их связи с прогрессированием заболевания. Полученные результаты позволяют выделить MIR-148a, MIR-191, MIR-129-2, MEG3 и SEMA3B-AS1 как наиболее перспективные маркеры для дальнейшего изучения.

В четвертой главе автор сопоставляет результаты собственного исследования с данными литературы и пытается объяснить выявленные закономерности с учетом

известных биологических функций исследованных генов. Положительным оцениваю наличие критического обсуждения отдельных результатов. В частности, в отношении GAS5 автор отмечает необходимость дополнительного изучения его статуса метилирования с использованием количественной ПЦР, что показывает понимание ограничений примененного подхода и направлений дальнейшей работы.

В диссертации представлено 6 выводов, соответствующих ранее поставленным задачам. Выводы сформулированы четко, отражают суть и содержание работы. Публикации в журналах ВАК РФ и автореферат полностью отражают содержание диссертационной работы. Принципиальных замечаний по оформлению и содержанию работы нет.

Вопросы:

- 1) Проводилась ли рандомизация в соответствии с вариантом лекарственной терапии в адьювантном и лечебном режимах в каждой сравниваемой группе?
- 2) Проводилась ли оценка мутации PIK3CA у больных люминальным РМЖ?

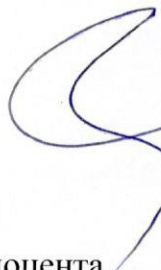
Заключение

Представленная диссертационная работа Осиповой Александры Александровны на тему «Клинико-диагностическая значимость метилирования длинных некодирующих РНК и микроРНК генов в прогнозе и лечении люминального рака молочной железы на ранних стадиях» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной задачи – выявлены эпигенетические маркеры, ассоциированные с риском прогрессирования и показателями выживаемости, и обоснована перспективность их дальнейшего использования для дополнительной молекулярной прогностической стратификации больных, что имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики и клинической онкологии.

Таким образом, результаты работы позволяют заключить, что по актуальности, научной новизне, практической значимости, объему исследования и полученным результатам диссертационная работа А.А. Осиповой соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением

Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Осипова Александра Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки).

Заведующая онкологическим
отделением хирургических методов
лечения (молочной железы)
ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП (о)
имени Н.П. Напалкова»
доктор медицинских наук, доцент



Е.М. Бит-Сава

«14» 09 2026 г.

Подпись официального оппонента д.м.н., доцента,
заведующей отделением хирургических методов лечения (молочной железы)
ГБУЗ Санкт-Петербургского клинического научно-практического центра
специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П.
Напалкова Е.М. Бит-Сава заверяю:

Заместитель директора на научной работе
ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП (о)
имени Н.П. Напалкова»,
доктор медицинских наук



А.А. Богданов

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Санкт-Петербургский
клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской
помощи (онкологической) имени Н.П. Напалкова»
197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А
Тел. +7 (812) 573-91- 31,
E-mail: nponkcentr@zdrav.spb.ru