УТВЕРЖДАЮ
Директор РНПЦ трансфузиологии
и медицинских биотехнологий
_____ Ф.Н. Карпенко
«28» _____02_____2025 г.

ОТЗЫВ ОППОНИРУЮЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»
на диссертационную работу Готько Оксаны Владимировны
«Биологические маркеры в дооперационной оценке распространенности опухолевого процесса, оценке риска прогрессирования и мониторинге CA125-негативного рака яичников», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки

Диссертационная работа Готько О.В. «Биологические маркеры в дооперационной оценке распространенности опухолевого процесса, оценке риска прогрессирования и мониторинге CA125-негативного рака яичников» выполнена в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова и посвящена решению актуальной проблемы онкологии и лабораторной диагностики, а именно повышению эффективности оценки распространенности опухолевого процесса и риску прогрессирования рака яичников (РЯ), а также разработке дополнительных критериев для диагностики, мониторинга и прогноза CA125-негативного РЯ на основе показателей молекулярно-биологических особенностей опухоли. Анализ содержания диссертации, результатов, полученных в ходе выполнения работы, рекомендаций по их практическому использованию, положений, выносимых на защиту, и публикаций свидетельствует, что данное диссертационное исследование полностью соответствует паспорту выбранной специальности 14.01.12 «онкология», утвержденному приказом Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 23 апреля 2018 г. № 116. Согласно паспорту, изучение маркеров опухолевого роста и прогноза исходов онкологических заболеваний проводятся в рамках специальности по биологической отрасли наук, по которой диссертация и представлена к защите.

Актуальность темы диссертации.

Несмотря на применение, как традиционных, так и относительно новых диагностических методов обнаружения и оценки прогрессирования рака яичников (РЯ), таких как рентгенография, инвазивная биопсия, опухолевые маркеры и комбинация трансвагинального УЗИ и опухолевых маркеров, данная онкопатология остается самым распространенным гинекологическим злокачественным новообразованием и имеет высокий уровень смертности.

В последнее десятилетие были предприняты значительные усилия для полного понимания патобиологии этой злокачественной опухоли и обнаружения биомолекул с диагностической и прогностической ценностью. Развитие современных подходов, основанных на геномике, транскриптомике и протеомике, ускорило изучение РЯ, предоставив исследователям и врачам новые знания о конечных эффекторных молекулах в клетке. С помощью масс-спектрометрического метода были идентифицированы потенциальные биомаркеры для диагностики и прогнозирования РЯ, которые в настоящее время, наряду с использованием общепризнанного онкомаркера данной патологии (CA125), включаются в различные скриннинговые алгоритмы для поиска наиболее диагностически эффективной комбинации. Тем не менее, исследования в данной области часто представляют собой исключительно длинные списки белков без отсылки на конкретный сигнальный путь или клеточный/молекулярный механизм. Иногда встречаются и противоречивые данные о конкретных биомаркерах и их роли в диагностике/прогнозе/терапевтическом исходе РЯ, подчеркивая необходимость проведения мета-анализа для возможности сравнения различных отдельных исследований. Таким образом, несмотря на преимущества использования в биологических исследованиях клеточных культур в качестве моделей, для решения вышеизложенных задач более актуальным представляется фокусирование внимания на биоанализе образцов, полученных от реальных пациентов.

На момент начала исследований по данной диссертационной работе в научной литературе не было представлено статистически достоверных масштабных комплексных исследований о закономерностях изменения содержания ряда опухолеассоциированных факторов и провоспалительных цитокинов в крови пациенток, страдающих РЯ, в зависимости от биологической активности опухоли, стадии заболевания и после проведения полихимиотерапии. Поэтому цели и задачи, поставленные и решенные в диссертационной работе Готько О.В. имеют актуальность и научную значимость.

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости

Для выполнения поставленной цели диссертационного исследования соискателем были отобраны биомолекулы, относящиеся к разным классам соединений – белки-онкомаркеры РЯ, провоспалительные цитокины, сигнальные молекулы, факторы неоангиогенеза, которые, согласно молекулярно-клеточным особенностям опухоли яичников, можно отнести к потенциальным маркерам для оценки распространенности, риска прогрессирования и мониторинга данной онкопатологии в течение всего периода лечения и наблюдения пациентов. Таким образом, в ходе выполнения работы была проведена оценка уровней содержания семи соединений – CA125, HE4, LPA, p55, IL-8, TNFα, VEGF, в периферической крови большой когорты пациентов с диагностированным РЯ (n=255) и клинически здоровых женщин (n=64), которая позволила определить взаимосвязь исследуемых биомаркеров с основными клинико-морфологическими характеристиками опухолевого процесса (стадией заболевания, степенью дифференцировки, менопаузального статуса, объема циторедукции), рассчитать диагностическую значимость этих лабораторных показателей и разработать новый метод дооперационной оценки распространенности РЯ и CA125-негативного РЯ.

Соискателем впервые на основании изучения динамики изменения уровней содержания CA125, HE4, LPA, p55, IL-8, TNFα, VEGF (до и после операции, а также до и после 3-х и 6-ти курсов полихимиотерапии) выявлены прогностические факторы риска прогрессирования РЯ. Более того, соискатель представил научно-обоснованные доказательства использования уровней содержания HE4, LPA, p55, IL-8 и VEGF после 3-х курсов полихимиотерапии в качестве прогностических факторов выживаемости до прогрессирования у пациенток с нормализацией содержания онкомаркера CA125.

Готько О.В. выполнила большой объем экспериментальной работы. Представленные в диссертации результаты исследовний по их количеству и качеству достаточны для анализа, научных обобщений и объективных выводов. Большой объем проведенных экспериментов, результаты которых представлены в 31 таблице и на 26 рисунках, адекватный выбор статистических инструментов, используемых для обработки полученных результатов, подтверждают достоверность и объективность полученных результатов.

Таким образом, результаты, полученные соискателем в рамках выполнения диссертационной работы, являются новыми и значимыми, при этом конструктивно дополняют полученные ранее данные в этом направлении.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

В настоящей работе соискатель установил закономерности изменения содержания исследуемых биомаркеров и индекса ROMA у пациенток, страдающих РЯ I–IV стадии, и продемонстрировал, что уровень их возрастания коррелирует со стадией заболевания. Были рассчитаны суммарные значения чувствительности, специфичности и эффективности для каждого из исследуемых биомаркеров и на основе определения в крови белка HE4 и p55 рецептора разработан метод оценки распространенности РЯ с диагностической эффективностью (ДЭ) 80,0%. Выявлено, что наиболее информативными для оценки риска прогрессирования РЯ среди исследуемых показателей являются CA125, HE4, VEGF и индекс ROMA, а наиболее оптимальный срок их определения – после 3-х курсов полихимиотерапии. При этом для повышения эффективности лабораторного мониторинга РЯ созданы 2 математические модели – регрессионное уравнение Z (ДЭ=84,0%) и формула ΔROMA (ДЭ=85,5%). Показано, что при применении данных моделей на пациентках с CA125-негативным РЯ, значения ДЭ увеличиваются до 91,4% и 88,6%, соответственно, что указывает на целесообразность дополнения лабораторного мониторинга CA125-негативного РЯ динамическим определением HE4 или VEGF. Соискатель в своей работе установил, что у пациенток с нормализацией уровня содержания CA125 после 3-х курсов полихимиотерапии, высокие значения концентраций HE4, LPA, p55, IL-8 и VEGF в крови свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе в данной группе пациенток и коррелируют с низкими показателями 1-, 3-, 5-летней выживаемости.

На основании вышеизложенных результатов соискателем были разработаны дополнительные критерии для диагностики, мониторинга и прогноза РЯ и CA125-негативного РЯ, которые легли в основу разработанных инструкций по применению, внедренных в клиническую работу 2-х онкоучреждений Республики Беларусь.

Таким образом, научные результаты, представленные в диссертационном исследовании, и положения, выносимые на защиту, получены впервые и обладают новизной и практической значимостью.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Диссертационная работа изложена на 160 страницах, оформлена согласно традиционному стилю и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы (глава 1), главы, отражающей материалы и методы исследования (глава 2), и трех глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения, списка использованных источников (на 28 листах) и 3-х приложений (на 13 листах).

Опубликованные по теме диссертации работы отражают основные положения, выносимые на защиту. Материалы диссертационной работы изложены в 40 научных публикациях, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», объемом 3,2 а.л., 1 статья в журнале, 18 – в сборниках научных трудов и материалах конференций, 21 – в тезисах докладов, 2 инструкции по применению, утвержденные Министерством здравоохранения РБ, 3 патента на изобретение РБ.

Основные разделы диссертационной работы были широко представлены на 11 республиканских и международных конференциях, конгрессах, съездах, а также на научных сессиях БГМУ.

Все разделы диссертации оформлены в соответствии с требованиями ВАК РБ, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата наук. Автореферат Готько О.В. и публикации по теме диссертации полностью соответствуют ее содержанию и отражают научную и практическую значимость.

Используемые в работе автоматические анализаторы нового поколения для определения уровней содержания различных биологически активных веществ в плазме и сыворотке крови, а также методы медицинской статистики, позволили дать адекватную оценку изучаемым процессам распространенности, риска прогрессирования и мониторинга опухолевого процесса и свидетельствуют о хорошем владении соискателем техникой составления баз данных пациентов и работы с огромным массивом экспериментальных данных.

Анализ научной и практической значимости диссертационного исследования и автореферата, методического уровня выполнения работы, актуальности выводов, положений, выносимых на защиту, и рекомендаций по практическому использованию полученных результатов позволяет заключить, что научная квалификация Готько Оксаны Владимировны соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к соискателю ученой степени кандидата биологических наук.

В целом, работа Готько О.В. оставляет благоприятное впечатление. Диссертация и автореферат хорошо оформлены и написаны в научном литературном стиле. Однако, несмотря на это, хотелось бы вступить с автором в небольшую дискуссию:

1. Так как в название диссертационного исследования был вынесен CA125-негативный рак яичников, то логично предположить, что вокруг данного типа онкопатологии и будет построена работа, а именно – на противопоставлении и сравнительном анализе результатов, полученных на общей когорте пациенток с РЯ и CA125-негативном РЯ. Однако, в литературном обзоре термин "CA125-негативный РЯ" упоминается лишь дважды (стр. 25) в контексте уровня онкомаркера CA125, а экспериментальные главы 3 и 4 посвящены исключительно всей исследуемой когорте пациенток с РЯ. Лишь в 5-ой главе появляется объект исследования работы, заявленный в названии, и то, на взгляд эксперта, подраздел 5.1. нагляднее было бы представить в Главе 3, а подраздел 5.2 – в Главе 4, так как часть пациенток с уровнем CA125 < 35 Е/мл в общей выборке все равно пересекаются. Все это затруднило восприятие текста диссертационного исследования и после ознакомления остался ряд вопросов:

– почему разработанный метод лабораторной оценки риска прогрессирования РЯ по обеим альтернативным моделям имеет диагностическую эффективность больше для CA125-негативного РЯ, чем для РЯ в целом (91,4% и 88,6% против 84% и 85,5% для РЯ соответственно), хотя, как в регрессионном уравнении Z, так и в формуле ΔROMA учитывается уровень содержания CA125 маркера;

– почему минимально обнаруженное содержание CA125 маркера в когорте пациенток после полной и оптимальной циторедукции увеличивается с 5,8 и 7,8 Е/мл до 12,9 и 21,1 Е/мл соответственно, на фоне общего статистически значимого ($p<0,0001$) снижения содержания CA125 для всей исследуемой когорты пациенток с РЯ (табл. 4.2);

– имеет ли биологический смысл различия в кратности увеличения уровней содержания ряда исследуемых биологических маркеров (TNFα, VEGF, IL-8) в крови пациенток с CA125-негативным РЯ и общей когорты пациенток с РЯ (табл. 5.3 и 3.2, 3.5);

– учитывая тот факт, что работа представлена к защите по биологической отрасли наук, хотелось бы, чтобы соискатель после анализа такого большого массива полученных экспериментальных данных, все же высказал предположение: так в чем же состоит молекулярно-биологическая особенность CA125-негативных опухолей и какие специфические механизмы участвуют в их развитии, прогрессировании и химиорезистентности по сравнению с "CA125-позитивными" опухолями.

2. В литературном обзоре соискатель остановился на характеристиках только тех биологических маркеров (CA125, HE4, LPA, p55, IL-8, TNFα, VEGF) и индекса ROMA, которые были выбраны для решения поставленных задач его исследования. При этом соискатель даже кратко (в виде таблицы/схемы) не представил другие известные к настоящему времени диагностические / прогностические / терапевтические маркеры крови, которые широко исследуются в мировой клинической практике в отношении рака яичников и для которых уже определены чувствительность/специфичность (трансферрин, β2-микроглобулин, аполипопротеин A1, остеопонтин и др.). Данные маркеры входят в алгоритмы одобренных в мировой клинической практике в качестве альтернативных ROMA индексов – OVA1, OVERA. Было бы также интересно узнать, на основании каких критериев был выбран предмет исследования, и почему в диссертационное исследование не были включены маркеры с заведомо установленными высокими значениями специфичности/чувствительности (напр.: аполипопротеин A1,

98%/94%; креатининкиназа В, 94%/92%). Почему был выбран именно индекс ROMA, а не RMI/ROCA или их совокупность.

3. В разделе "Материалы и методы" отсутствует подраздел "Реактивы", а также классическое биологическое описание пробоподготовки образцов для исследования и используемых методов исследования (концентрация антител, их клональность, чувствительность, линейность, условия и времена инкубации и т.д.). Более того, в описании электрохемилюминесцентного метода, с помощью которого определяли содержание в крови онкомаркеров CA125 и HE4, акцент сделан, не на реакцию между антителом и антигеном, лежащую в основе метода, а на физическое устройство автоматического анализатора.

4. В диссертационной работе соискатель определял значения концентраций 2-х онкомаркеров, 3-х провоспалительных цитокинов, 1-го регулятора неоангиогенеза и 1-й сигнальной молекулы. Однако, в заглавии глав, подглав диссертационного исследования и автореферата, в положениях 1 и 4, выносимых на защиту, и в ряде выводов соискатель употребил все исследуемые категории биологических соединений во множественном числе, что все же не соответствует истинному смыслу проведенных исследований.

5. Главы 3, 4, 5 начинаются с таблиц 3.1, 4.1, 5.1, 5.2 в которых представлен анализ распределения изучаемых лабораторных показателей в выборках. Однако, эти таблицы не несут никакой информативной нагрузки для экспериментальных глав и тот факт, что все показатели не подчинялись нормальному закону распределения, можно было описать в подразделе 2.3. "Статистическая обработка результатов".

6. С момента внедрения разработанных соискателем с соавт. методов в клиническую практику РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова прошло уже достаточно много времени, в связи с чем хотелось бы узнать, как повысилась эффективность оценки степени риска опухолевой прогрессии и распространенности опухолевого процесса у пациенток с РЯ на примере ведущего онкоцентра страны, а также имеется ли экономическая эффективность от включения в клинико-диагностическую карту пациенток с CA125-негативным РЯ дополнительных критериев для его диагностики и мониторинга.

Данные дискуссионные вопросы не изменяют общего хорошего впечатления о рассматриваемой диссертационной работе.

Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертации

Критерии оценки распространенности опухолевого процесса и риска прогрессирования РЯ, которые легли в основу трех патентов на изобретение способов определения распространенности и прогнозирования течения и прогрессирования серозной аденокарциномы яичников и двух методов оценки степени риска опухолевой прогрессии у лиц, страдающих злокачественными новообразованиями яичников, утвержденных Министерством здравоохранения РБ, внедрены (получено 5 актов внедрения) в практическую деятельность РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова и в Могилевский областной онкологический диспенсер, а также рекомендованы другим

медицинским учреждениям онкологического профиля с целью персонализации лечения и выбора тактики наблюдения.

Соискатель продемонстрировал, что для пациенток с исходно CA125-негативным РЯ и для лиц с нормализацией уровня содержания опухолевого маркера CA125 после 3-х курсов полихимиотерапии необходимо вводить дополнительный лабораторный мониторинг по ряду биологических маркеров, как в их одномоментном определении, так и в динамике, что может помочь при выборе/модификации тактики дальнейшего наблюдения и персонифицированном подходе при лечении таких пациентов.

Стоит отметить, что выявление молекул пригодных для раннего обнаружения или оценки терапевтических целей с высокой чувствительностью и специфичностью может значительно повысить общую выживаемость и качество жизни пациентов с РЯ. Учитывая вышеизложенное, можно заключить, что диссертационная работа Готько О.В. обладает практической, экономической и социальной значимостью.

Вывод

Диссертационная работа Готько Оксаны Владимировны «Биологические маркеры в дооперационной оценке распространенности опухолевого процесса, оценке риска прогрессирования и мониторинге CA125-негативного рака яичников» является самостоятельно выполненной квалификационной научной работой и соответствует всем требованиям ВАК РБ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 «онкология» в соответствии с требованиями пп. 20-21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17.11.2004 № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 02.06.2022 № 190) может быть присуждена Готько Оксане Владимировне за получение новых научно обоснованных результатов в области онкологии, включающих:

– установление диагностической чувствительности, специфичности и эффективности ряда молекулярно-биологических маркеров, ассоциированных с раком яичников;

– разработку лабораторных методов дооперационной оценки распространенности и риска прогрессирования рака яичников;

– выявление дополнительных лабораторных критериев для диагностики исходно CA125-негативного рака яичников;

– установление прогностических факторов выживаемости до прогрессирования у пациенток с нормализацией уровня содержания CA125 онкомаркера после 3-х курсов адьювантной полихимиотерапии.

Все вышеперечисленное в совокупности вносит существенный вклад в клиническую оценку распространенности опухолевого процесса, риска прогрессирования и мониторинга терапии рака яичников.

Отзыв на диссертацию Готько Оксаны Владимировны «Биологические маркеры в дооперационной оценке распространенности опухолевого процесса, оценке риска прогрессирования и мониторинге CA125-негативного рака яичников», представленную

на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология, согласно приказу директора ГУ "РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий" от 24.02.2025 № 58 рассмотрен на расширенном заседании Ученого совета организации 27.02.2025 (протокол заседания №2).

Соискатель Готько Оксана Владимировна выступила на заседании с докладом. На расширенном заседании Ученого совета состоялась дискуссия, соискатель ответила на все вопросы.

В работе заседания и в голосовании приняли участие 13 человек из 26 присутствующих, имеющих научные степени: 3 доктора медицинских наук (Потапнев М.П., Еремин В.Ф., Бордаков В.Н.), 5 кандидатов биологических наук (Расюк Е.Д., Пасюков В.В., Гармаза Ю.М., Власов А.П., Фомин И.К.), 4 кандидата медицинских наук (Дашкевич Э.В., Дунаев И.А., Злотникова М.А., Пешняк Ж.В.), 1 кандидат химических наук (Петевка Н.В.).

Результаты открытого голосования: «за» – 13, «против» – нет, «воздержались» – нет.

Председатель расширенного заседания Ученого совета:
заведующий отделом клеточных биотехнологий РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
д-р. мед. наук, профессор, М.П. Потапнев

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись М.П. Потапнева удостоверяю
Заведующий сектором кадров И.Н. Шерстит

Эксперт оппонирующей организации:
ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии антител и цитокинов РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
канд. биол. наук, доцент Ю.М. Гармаза

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись Ю.М. Гармаза удостоверяю
Заведующий сектором кадров И.Н. Шерстит

Секретарь расширенного заседания Ученого совета:
ученый секретарь РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, канд. биол. наук, В.В. Пасюков

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись В.В. Пасюкова удостоверяю
Заведующий сектором кадров И.Н. Шерстит