

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, Топольницкого Евгения Богдановича на диссертационную работу Козлова Вадима Викторовича «Клинические и молекулярно-генетические особенности немелкоклеточного рака легкого и их значение для диагностики и лечения у курящих и некурящих пациентов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия в диссертационный совет 24.1.242.02 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

### **Актуальность избранной темы**

Представленная диссертационная работа Козлова В.В. посвящена поиску новых клинических и молекулярных маркеров рака легкого для диагностики и лечения в зависимости от статуса курения. Рак легкого занимает лидирующее место в структуре онкологических заболеваний и характеризуется высокой смертностью во всем мире. За последние десятилетия отмечается неуклонный рост частоты встречаемости этой злокачественной опухоли во всех возрастных группах. Современная онкология неразрывно связано с молекулярно-генетическими исследованиями, направленность которых продиктована интенсивным поиском высокоэффективных диагностических и лечебных методов, а подтверждением этого факта служит наличие многочисленных научных сообщений и квалификационных научных работ в области экспериментальной и клинической онкологии. Детекция и последующее изучение различных молекулярных маркеров, мутаций в опухоли, предикторов различных состояний и использование их в клинической практике позволяет улучшить результаты лечения немелкоклеточного рака легкого. Однако, несмотря на соблюдение всех универсальных онкологических принципов и внедрение прорывных диагностических алгоритмов и лечебных опций, общая и безрецидивная выживаемость пролеченных больных раком легкого далека от

желаемой. Поэтому важнейшей задачей современной медицины и биологии является поиск новых молекулярных мишеней прогноза и лечения рака легкого в зависимости от его подтипа и влияния факторов окружающей среды, в частности табачного дыма. В связи с чем, актуальность диссертационной работы не вызывает сомнений.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Автор выносит на защиту пять положений, которые сформулированы кратко и полноценно. Первое положение касается эпидемиологии и влияния фактора курения и пола на выживаемость пациентов. Второе положение подтверждает эффективность «жидкой» биопсии как предиктора ранней резистентности к таргетной терапии рака легкого. В третьем и четвертом положениях приводятся экспериментальные данные изменения экспрессии изучаемых молекулярных маркеров в зависимости от статуса курения. В пятом положении отдельно представлены гендерные особенности изменения экспрессии изучаемых молекулярных маркеров на моделях экспериментальных животных при разных режимах введения бензо(а)пирена.

Большой объем клинического материала, а также широкий спектр проведенных молекулярно-генетических исследований позволили автору обосновать все научные положения, выносимые на защиту. В диссертационной работе сформулировано 9 выводов, которые полностью соответствуют поставленным задачам и в полной мере отражают полученные результаты. Обоснованность практических рекомендаций не вызывает сомнений.

### **Научная новизна исследования**

Научная новизна работы заключается в проведенном глубоком биоинформатическом анализе с использованием набора геномных данных UALCAN, который позволил определить вектор исследовательской работы, а именно, была изучена экспрессии мРНК *AhR*, изменения уровней экспрессии классических генов-мишеней *AhR* (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*), изменения



уровня экспрессии гена *CD274*, уровня мРНК *PTEN* в опухолях НМРЛ в сравнении с нормальной тканью с учетом статуса курения. Далее эти данные были впервые сопоставлены с уровнем экспрессии в опухолевых образцах немелкоклеточного рака легкого, полученных от человека. С помощью анализа базы данных TCGA методами *in silico* впервые выявлены новые AhR-зависимые микроРНК в опухолях пациентов с немелкоклеточным раком легкого (аденокарцинома и плоскоклеточный рак легкого) и изучено изменение их экспрессии в зависимости от статуса курения. Впервые была исследована ассоциация экспрессии микроРНК-21, -342, -93, -181a, -155, -146a со статусом PD-L1 в опухолевых образцах рака легкого. Изучены изменения уровня экспрессии генов-мишеней, представленных микроРНК, например, экспрессии *PTEN*, что позволило рассматривать его, как потенциальный маркер для в лечении рака легкого. Впервые на моделях экспериментальных животных показано изменение экспрессии AhR-регулируемых генов (*CYP1A1*, *CYP1B1*, микроРНК-22-3p, -29a-3p, -193b-5p, -483-3p) и их генов-мишеней (*PTEN*, *EMP2*, *IGF1*, *SLC34A2*) в легких в зависимости от гендерного фактора, при однократном и хроническом воздействии бензо(а)пирена. Также впервые проведен масштабный эпидемиологический анализ по выживаемости пациентов с раком легкого в Новосибирской области в зависимости от различных факторов.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов**

Результаты, полученные автором в ходе исследовательской работы важны для фундаментальной науки и клинической онкологии. Практическая ценность заключается в выявлении клинических факторов, оказывающих влияние на выживаемость пациентов, страдающих раком легкого, что определяет прогноз и выбор лечебной тактики. Изучены возможности «жидкой» биопсии для раннего выявления резистентности к проводимой таргетной терапии аденокарциномы легкого с мутацией EGFR. Теоретическая значимость заключается в изучении изменения экспрессии

арилуглеводородного рецептора под воздействием бензо(а)пирена, а также выявлении AhR-регулируемых генов в опухолях курящих и некурящих пациентов с немелкоклеточным раком легкого (*микроРНК, PD-L1*), а также микроРНК, которые могут регулировать гена *PTEN*. Полученные данные по изменению экспрессии этих генов под воздействием курения и в отсутствии фактора курения через активацию AhR важны для понимания начального этапа канцерогенеза легких у курящих и некурящих пациентов, что в дальнейшем может определять различные терапевтические подходы в зависимости от статуса курения. Выявленные молекулярные маркеры (*микроРНК, PTEN*) могут быть использованы в качестве дополнительных и потенциальных маркеров ранней диагностики, определения прогноза ответа на лечение, выступать в качестве привлекательной терапевтической модели. Полученные результаты на моделях экспериментальных животных по изменению экспрессии AhR-регулируемых генов (*CYP1A1, CYP1B1, микроРНК-22-3p, -29a-3p, -193b-5p, -483-3p*) и их генов-мишеней (*PTEN, EMP2, IGF1, SLC34A2*) в легких в зависимости от гендерного фактора, при однократном и хроническом воздействии бензо(а)пирена также раскрывают основу молекулярных отличий рака легкого у мужчин и женщин.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация изложена в традиционном стиле на 280 страницах машинописного текста, иллюстрирована 50 таблицами и 71 рисунком. Во введении лаконично и убедительно актуализируется проблема избранной тематики исследования, обоснованы цель и задачи исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, описана научная новизна, теоретическая и практическая ценность работы, приводится информация о внедрении результатов исследования в клиническую практику и личного вклада автора в работу, приведены данные об апробации работы.

Основная часть исследовательской работы состоит из четырех глав, таких как, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, также имеется заключение, выводы и практические



рекомендации. В обзоре литературы подробно представлена классификация ВОЗ рака легкого, современная эпидемиология и влияние факторов внешней среды, как в мире, так и в Российской Федерации. Большая часть обзора посвящена молекулярным маркерам, вовлеченным в канцерогенез легкого, что позволяет еще раз актуализировать изучаемую проблему. Во второй главе охарактеризованы клинические образцы, экспериментальные животные, использованные в работе, а также достаточно подробно описаны молекулярно-генетические методы. В этой главе раскрыты методы биоинформатического анализа и их сочетание с иммуногистохимическими и молекулярно-биологическими методами. Детально прописаны методы выделения и культивирования разных подтипов дендритных клеток. Отдельный раздел посвящен подробному описанию статистических методов. Все указанные методы в этой главе являются воспроизводимы. В глава «результаты» детально представлены результаты клинической части исследования и экспериментов, данный материал наглядно иллюстрирован рисунками и таблицами. В четвертой главе полученные результаты обсуждаются с критической точки зрения и сопоставляются с данными мировой литературы. В заключении автор еще раз расставляет основные акценты на полученных результатах, также в заключении представлена авторская схема гипотетического классического и эпигенетические канцерогенеза легкого. В работе представлены логично вытекающие из результатов исследовательской работы практические рекомендации и потенциальные рекомендации по алгоритму диагностики рака легкого.

### **Апробация результатов исследования**

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, из них 6 статей в зарубежных журналах, 6 статей в российских журналах, рекомендованных ВАК. Имеется 2 патента РФ на изобретение. Результаты исследовательской работы доложены на многочисленных российских и зарубежных конференциях. Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают основные результаты диссертации.

Диссертационная работа выполнена на высоком методологическом уровне, охватывает все вопросы поставленной научной проблематики. Оригинально и логично представлен дизайн исследования, прослеживается большой личный вклад автора. В работе получены новые научные результаты для решения проблематики ранней диагностики рака легкого. Диссертация написана хорошим научным языком, результаты наглядно иллюстрированы графиками и таблицами.

После ознакомления и анализа диссертации вопросов и принципиальных замечаний по содержанию, форме и способу изложения нет. Однако возникло несколько дискуссионных вопросов:

- 1) Согласно вашему исследованию выживаемость пациентов с немелкоклеточным раком легкого зависит не только от стадии, гистотипа, но и от курения. Уточните, чем обусловлено снижение медианы выживаемости у курящих пациентов?
- 2) Были ли включены пациенты с немелкоклеточным раком легкого длительно курящие в анамнезе, но отказались от курения накануне исследования? Оказывает ли какое-либо влияние на выживаемость отказ от курения у длительно курящих пациентов с немелкоклеточным раком легкого?
- 3) Чем можно объяснить установленный вами факт, что у курящих женщин EGFR мутация не выявлялась? Является ли это поводом полностью исключить это вид тестирования у курящих женщин?

### **Заключение**

Диссертационная работа Козлова Вадима Викторовича на тему «Клинические и молекулярно-генетические особенности немелкоклеточного рака легкого и их значение для диагностики и лечения у курящих и некурящих пациентов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная проблема онкологии ранней диагностики резистентности к таргетной терапии при раке легкого по средствам изучения циркулирующей ДНК плазмы. Представлены новые механизмы канцерогенеза легкого в зависимости от



курения. Выявлены перспективные молекулярные маркеры диагностики и лечения рака легкого. По актуальности решаемой проблеме, широте использованных методов, новизне и достоверности результатов, научной и практической значимости квалификационная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335, от 20 марта 2021 г. №426, от 11 сентября 2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент, доктор медицинских наук, доцент, заведующий хирургическим торакальным отделением Областного государственного автономного учреждения здравоохранения «Томская областная клиническая больница», профессор кафедры хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

«29 сентября 2023 г

Топольницкий Евгений Богданович

Согласен на сбор, обработ.  
диссертационный совет 24.1.24  
научного учреждения «Федераль.  
трансляционной медицины»

дачу моих персональных данных в  
того государственного бюджетного  
ый центр фундаментальной и

«29» сентября 2023 г.

Подпись д.м.н. Топольницкого Е.Б. заверя.  
Начальник отдела кадров  
ОГАУЗ «Томская областная клиническая больн.

3: Виклейн



Контактные данные: тел.: 8 (3822) 63-00-34, E-mail: topolnitskiy.eb@ssmu.ru.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 14.01.17 – хирургия. Адрес места работы: 634063, г. Томск, ул. Ивана Черных, 96, тел. 8 (3822) 63-00-63, E-mail: okb@trecom.tomsk.ru