

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора
Гуляевой Людмилы Федоровны на диссертационное исследование
Азовского Даниила Игоревича на тему «Неoadъювантная
химиотерапия в комбинированном лечении рака ободочной кишки»,
представленное на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальностям 3.1.6 Онкология, лучевая терапия; 3.3.3
Патологическая физиология.

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационное исследование Д.И. Азовского находится на стыке клинической онкологии и фундаментальной молекулярной биологии, что само по себе отражает современный тренд трансляционной медицины. Проблема поиска надежных предикторов ответа на химиотерапию при колоректальном раке остается одной из наиболее острых в современной онкологии. Если для ряда нозологий молекулярно-генетическое тестирование уже прочно вошло в рутинную практику, то при раке ободочной кишки у пациентов с отсутствием драйверных мутаций в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, низким MSS-статусом выбор тактики лечения до сих пор носит эмпирический характер. В этой связи особую значимость приобретает изучение внутриклеточных сигнальных каскадов, определяющих не только биологическое поведение опухоли, но и ее чувствительность к цитостатическому воздействию.

Автор сфокусировался на одном из ключевых регуляторных путей – PI3K/AKT/mTOR, который контролирует фундаментальные процессы жизнедеятельности клетки: пролиферацию, апоптоз, метаболизм и формирование инвазивного фенотипа. Особый интерес вызывает выбор молекулярных мишеней – онкопротеина ганкирина (PSMD10) и регулирующей его микроРНК-605. Ганкирин, будучи субъединицей 26S протеасомы, обладает доказанной способностью модулировать активность

опухолевых супрессоров (в частности, белка ретинобластомы), а также активировать каскады PI3K/AKT и IL-6/STAT3. МикроРНК-605, в свою очередь, рассматривается как эпигенетический регулятор экспрессии ганкирина, что делает эту пару молекул привлекательной моделью для изучения механизмов канцерогенеза и лекарственной устойчивости.

Таким образом, представленная диссертационная работа, направленная на изучение экспрессионного профиля компонентов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути, ганкирина и микроРНК-605 в опухолевой ткани больных раком ободочной кишки на фоне тотальной неоадьювантной химиотерапии, а также на разработку на этой основе прогностической модели, является, безусловно, актуальной и своевременной.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации

Научная новизна диссертационной работы представляется весьма существенной, особенно в ее молекулярно-биологической части. Автором впервые проведен комплексный анализ динамики экспрессии ключевых компонентов сигнального каскада PI3K/AKT/mTOR (4EBP1, AKT, c-RAF, GSK-3 β , 70S6-киназы, mTOR, PDK1, PTEN) в опухолевой ткани больных раком ободочной кишки непосредственно в процессе проведения неоадьювантной химиотерапии. Такой подход, предполагающий исследование парных образцов (до и после лечения), позволил автору получить уникальные данные о молекулярных перестройках, сопровождающих специализированную лекарственную терапию.

Принципиально новыми являются данные о том, что эффективность неоадьювантной терапии сопряжена с разнонаправленными изменениями компонентов PI3K/AKT/mTOR-пути. В частности, показано, что в случае частичной регрессии опухоли наблюдается повышение экспрессии ингибитора транскрипции 4EBP1, тогда как при стабилизации или

прогрессировании заболевания зафиксирован взрывной рост экспрессии PDK1 (в 249,3 раза) на фоне подавления c-RAF. Эти находки имеют фундаментальное значение, поскольку проливают свет на механизмы, посредством которых опухолевые клетки могут уклоняться от цитостатического воздействия.

Не менее значимым является установление роли ганкирина и микроРНК-605 в реализации ответа на химиотерапию. Автор убедительно демонстрирует, что снижение экспрессии ганкирина и повышение уровня микроРНК-605 ассоциированы с отсутствием объективного ответа опухоли на лечение. Кроме того, выявлена связь этих показателей с лимфогенной диссеминацией и степенью дифференцировки аденокарциномы, что углубляет понимание патогенеза рака ободочной кишки. Разработанная на основе многофакторного анализа математическая модель логистической регрессии, объединяющая клинические и молекулярные параметры, обладает признаками научной новизны и представляет собой пример успешного трансляционного исследования.

Значимость полученных результатов для теории и практики

Теоретическая значимость работы определяется существенным вкладом в понимание молекулярных механизмов, регулирующих чувствительность аденокарциномы ободочной кишки к цитостатической терапии. Полученные данные расширяют представления о роли сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в развитии лекарственной резистентности и позволяют рассматривать ганкирин и микроРНК-605 в качестве потенциальных компонентов этого механизма. Предложенная автором патогенетическая схема, обобщающая выявленные ассоциации между молекулярными маркерами и клинико-морфологическими характеристиками опухоли, заслуживает внимания как основа для дальнейших фундаментальных исследований.

Практическая ценность работы заключается в разработке прогностической модели, которая использует количественные показатели экспрессии мРНК ганкирина и микроРНК-605 в сочетании со стадией опухолевого процесса для предсказания объективного ответа на неоадьювантную химиотерапию. Данная модель ($AUC=0,792$) может рассматриваться как инструмент для персонификации лечебной тактики. Кроме того, полученные автором данные о безопасности тотальной неоадьювантной химиотерапии и ее положительном влиянии на безрецидивную выживаемость имеют непосредственное значение для клинической онкологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе Д.И. Азовского, не вызывает сомнений. Они базируются на достаточном объеме клинического материала (62 пациента), тщательно спланированном дизайне исследования и применении современных молекулярно-биологических методов. Оценка экспрессии генов выполнена с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) с соблюдением всех необходимых контролей и нормализацией по референсному гену *GAPDH*, что обеспечивает воспроизводимость и надежность полученных данных. Статистический анализ проведен с использованием адекватных непараметрических критериев, корреляционного анализа и многофакторной логистической регрессии.

Цель работы сформулирована четко и отражает суть проведенного исследования, задачи соответствуют поставленной цели. Положения, выносимые на защиту, и выводы аргументированы, являются логическим следствием полученных результатов. Результаты исследования прошли

апробацию на научно-практических конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, получен 1 патент РФ на изобретение. Все это позволяет заключить, что научные положения и выводы диссертации в полной мере обоснованы и достоверны.

Оценка содержания работы, ее завершенность и оформление

Диссертационная работа Д.И. Азовского оформлена в классическом академическом стиле и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение), заключения, выводов и практических рекомендаций. Диссертация иллюстрирована 15 рисунками и 20 таблицами, что обеспечивает наглядность и облегчает восприятие материала. Список литературы включает 143 источника, в том числе 9 отечественных и 134 зарубежных публикации. Такое соотношение свидетельствует о глубоком погружении автора в мировую научную повестку и хорошем знании современных тенденций в молекулярной онкологии колоректального рака.

Во «Введении» автор убедительно обосновывает актуальность исследования, четко формулирует цель и задачи, раскрывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы. Положения, выносимые на защиту, хорошо согласуются с полученными результатами и отражают как клиническую, так и молекулярно-биологическую составляющие диссертации.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором проведен всесторонний анализ современного состояния проблемы. Автор последовательно рассматривает эпидемиологию колоректального рака, эволюцию подходов к комбинированному лечению, подробно

останавливается на результатах ключевых международных исследований неоадьювантной химиотерапии (FOxTROT, PRODIGE 22, OPTICAL). Особого внимания заслуживает раздел, посвященный молекулярной онкологии рака ободочной кишки. Диссертант демонстрирует глубокое понимание структуры и функций сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, его роли в регуляции пролиферации, апоптоза, инвазии и лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Детально разобраны современные данные о ганкирине как онкопротеине, а также о микроРНК-605 как потенциальном эпигенетическом регуляторе экспрессии ганкирина. Завершается обзор аргументированным заключением, обосновывающим необходимость проведения настоящего исследования. Глава демонстрирует высокую эрудицию автора и его способность к критическому анализу научной литературы.

Вторая глава «Материал и методы исследования» детально описывает дизайн работы, критерии включения и исключения пациентов, а также весь спектр использованных методов. Методологический уровень выполненного исследования заслуживает высокой оценки. Помимо стандартных клинко-инструментальных методов, автором применен широкий арсенал современных молекулярно-биологических технологий. Количественная оценка экспрессии мРНК генов-компонентов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути и гена PSMD10 (ганкирин) выполнена методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием специфичных олигонуклеотидных праймеров и нормализацией по референсному гену GAPDH. Все этапы — от выделения тотальной РНК с контролем целостности (RIN) до расчета относительного уровня экспрессии методом $\Delta\Delta C_t$ — описаны с высокой степенью детализации, что обеспечивает воспроизводимость полученных результатов. Автор также использует биоинформатические ресурсы (TargetScan, MiRTarBase, STRING) для предсказания и анализа белок-белковых взаимодействий между ганкирином и компонентами сигнального каскада, что свидетельствует о комплексном подходе к решению поставленных задач.

Статистическая обработка данных проведена с применением адекватных непараметрических критериев, корреляционного анализа, метода Каплана–Майера и многофакторной логистической регрессии. Совокупность использованных подходов свидетельствует о высоком методическом уровне исследования.

Третья глава, представляющая результаты собственных исследований, выстроена логично и последовательно. В клиническом разделе автор детально анализирует профиль токсичности и переносимость тотальной неоадьювантной химиотерапии, особенности выполнения хирургического этапа, а также частоту и структуру послеоперационных осложнений. Полученные данные убедительно демонстрируют, что проведение полного курса предоперационной химиотерапии не сопровождается ростом частоты тяжелых нежелательных явлений и не оказывает негативного влияния на течение периоперационного периода.

Однако центральное место в диссертации, на мой взгляд, занимают разделы, посвященные молекулярно-биологическим исследованиям. Автором впервые проведен детальный анализ экспрессионного профиля компонентов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути, ганкирина и микроРНК-605 в опухолевой ткани больных раком ободочной кишки. Выявлены нетривиальные волнообразные изменения экспрессии GSK-3 β , 70S6-киназы и mTOR в зависимости от распространенности опухолевого процесса, что указывает на сложную динамику активации данного сигнального каскада на различных этапах опухолевой прогрессии. Принципиально важным является обнаружение связи между уровнем экспрессии ганкирина и степенью дифференцировки опухоли, а также лимфогенной диссеминацией.

Особый научный интерес представляет анализ динамики молекулярных маркеров непосредственно в процессе неоадьювантной химиотерапии. Исследование парных образцов (до и после лечения) позволило автору установить, что эффективность терапии ассоциирована со снижением экспрессии ганкирина и повышением уровня микроРНК-605, тогда как

отсутствие объективного ответа сопровождается взрывным ростом экспрессии PDK1 (в 249,3 раза) и подавлением c-RAF. Эти фундаментальные данные существенно углубляют понимание механизмов формирования лекарственной чувствительности и резистентности при раке ободочной кишки.

Корреляционный анализ выявил статистически значимые связи между экспрессией GSK-3 β , mTOR и микроРНК-605, а также продемонстрировал, что повышенная экспрессия ганкирина ассоциирована с активацией 70S6-киназы – ключевого регулятора синтеза белка. Отсутствие прямой корреляции между ганкирином и микроРНК-605 автором справедливо интерпретируется как свидетельство опосредованного характера их взаимодействия через сигнальный каскад PI3K/AKT/mTOR.

Логичным завершением фундаментальной части работы является разработка математической модели логистической регрессии для прогнозирования объективного ответа на неоадьювантную химиотерапию. Модель, включающая клинические (T, N) и молекулярные (экспрессия ганкирина и микроРНК-605) параметры, демонстрирует хорошее качество (AUC=0,792) и может рассматриваться как пример успешного трансляционного исследования.

В «Заключении» автор обобщает полученные результаты, проводит их обстоятельное сопоставление с данными научной литературы. Представленная патогенетическая схема, иллюстрирующая роль компонентов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути, ганкирина и микроРНК-605 в механизмах опухолевой прогрессии при раке ободочной кишки, выглядит убедительно и наглядно. Сформулированные 6 выводов полностью соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из полученных данных. Практические рекомендации конкретны и отражают возможность применения результатов в клинической практике.

Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертации и оформлен в соответствии с действующими требованиями.

Таким образом, диссертационная работа Д.И. Азовского представляет собой завершённый научный труд, в котором решена актуальная научная задача, имеющая как фундаментальное, так и прикладное значение.

Замечания

Принципиальных замечаний по диссертационной работе у меня не возникло. При прочтении возникли вопросы дискуссионного и уточняющего характера:

1. Отсутствие прямой корреляционной связи между экспрессией ганкирина и микроРНК-605 ($r=0,19$, $p=0,37$), обнаруженное автором, заслуживает более детального обсуждения, поскольку противоречит классической модели РНК-интерференции. Автор справедливо связывает это с опосредованным характером взаимодействия через компоненты PI3K/AKT/mTOR-сигнального каскада, что открывает перспективы для дальнейших исследований.
2. Хотелось бы знать мнение автора о причинах увеличения активности PDK1 почти в 250 раз. По сравнению с известными результатами это увеличение обычно до 20 раз.
3. Из работы не ясно, каким методом определялась экспрессия микроРНК-605? Автор также не приводит данных об экспериментальном доказательстве ее взаимодействия с ганкирином, ссылаясь лишь на взаимосвязь с различными факторами транскрипции (рис. 12).

В целом, я высоко оцениваю диссертационную работу Д.И. Азовского, в которой получен ряд важных для фундаментальной науки и клинической практики результатов.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Азовского Даниила Игоревича на тему «Неoadъювантная химиотерапия в комбинированном лечении рака ободочной кишки», представленная на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой. В ней содержится решение актуальной научной задачи: на основании комплексного клинико-молекулярного исследования обоснована эффективность тотальной неoadъювантной химиотерапии при резектабельном раке ободочной кишки и выявлены молекулярные предикторы ответа опухоли на лечение, что имеет существенное значение для онкологии и патологической физиологии. Диссертация по своей актуальности, объему и методологическому уровню выполненных исследований, новизне полученных данных, теоретической и практической значимости соответствует требованиям ВАК пп. 9-14 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 (в ред. от 16.10.2024), а автор – Азовский Даниил Игоревич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6 Онкология, лучевая терапия; 3.3.3 Патологическая физиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»
доктор биологических наук, профессор

Подпись д.б.н., профессора Гуляевой Л.Ф. заверяю:
ученый секретарь ФИТЦ ФТМ, д.б.н.



Дата: « 22 » 09 2026г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» 630117, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2. Телефон: +7 (383) 274-95-80. E-mail: director@frcftm.ru. Сайт: www.frcftm.ru.

