

Письменный отзыв
 официального рецензента
 кандидата биологических наук, ассоциированного профессора
Кожаметова Самата Сериковича
 на диссертационную работу **Штефанова Ивана Ивановича**
 на тему «Молекулярно-генетические и микробиологические аспекты рака желудка в
 Казахстане»,
 представленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности
 «6D 110100 – Медицина»

№ п/п	Критерии	Соответствие критериям (необходимо отметить один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента.
1	Тема диссертации (на дату ее утверждения) соответствует направлениям развития науки и/или государственным программам	1.1. Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам: 1) Диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого (ой) из государственного бюджета, (указать название и номер проекта или программы) 2) Диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы); 3) Диссертация соответствует <u>приоритетному направлению развития науки</u> , утвержденному Высшей научно-технической комиссией при правительстве республики Казахстан (указать направление)	Тема диссертации Штефанова Ивана Ивановича соответствует приоритетным направлениям развития науки и государственным программам Республики Казахстан. Часть диссертационной работы, посвященная поиску однонуклеотидных мутаций генов TNF α , IL1B, IL10, TP53 и CD14, выполнена в рамках научного гранта Министерства образования и науки Республики Казахстан: O.0584 НТП «Создание генетических паспортов для отдельных групп населения Казахстана на основе использования ДНК-технологии» на 2012-2014 годы. Диссертация соответствует приоритетным направлениям развития науки.
2	Важность для науки	Работа <u>вносит</u> существенный вклад в науку, а <u>ее важность хорошо раскрыта</u>	Выполненная диссертационная работа Штефанова И.И., вносит вклад в науку, и ее важность хорошо раскрыта. Разработанная методика молекулярно-генетического исследования герминальных мутаций гена CDH1 и однонуклеотидных мутаций генов TNF α , IL1B, IL10, TP53 и CD14 может использоваться в научно-исследовательских работах и практической медицине для ранней диагностики наследственных форм рака желудка. Выявленные особенности инфицирования <i>Helicobacter pylori</i> при диффузном раке желудка открывают перспективы

			<p>уточнения канцерогенеза данной инфекции. Изучение взаимосвязи уровня экспрессии E-кадгерина и прогноза заболевания вносит существенный вклад в молекулярные характеристики данного злокачественного заболевания.</p>
3	<p>Принцип самостоятельности</p>	<p>Уровень самостоятельности:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Высокий; 2) <u>Средний</u>; 3) Низкий; 4) Самостоятельности нет. 	<p>В диссертационной работе принцип самостоятельности соблюден частично.</p> <p>Автор самостоятельно провел литературный поиск по данной проблеме, набор базы данных, первичную обработку материала, интерпретацию полученных результатов. Диссертант самостоятельно проводил опрос с последующим заполнением карт опросников пациентов, непосредственно участвовал в проведении молекулярно-генетических исследований (совместно с сотрудниками и на базе лаборатории коллективного пользования НЦБ РК), иммуногистохимического метода исследования (совместно с сотрудниками и на базе патоморфологического отделения ГКП на ПХВ «Многопрофильного медицинского центра», биопсии паховых лимфоузлов, определения уреазной активности биоптатов слизистой желудка, проведения статистического анализа. Диссертация написана автором самостоятельно с формулированием основных положений, научной новизны, выводов и рекомендаций.</p>
4.	<p>Принцип внутреннего единства.</p>	<p>4.1 Обоснование актуальности диссертации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <u>Обоснована</u>; 2) Частично обоснована; 3) Нет обоснования. 	<p>Диссертантом достаточно хорошо обоснована актуальность темы, которая посвящена медико-социальной проблеме – рак желудка. Проблема заболеваемости, смертности больных раком желудка значима во всем мире. Согласно различным литературным источникам наследственно обусловленные формы встречаются от 5 до 10 % от общего числа заболевших данной нозологией.</p>

4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации:

- 1) Отражает;
- 2) Частично отражает;
- 3) Не отражает

Содержание диссертационной работы в полной мере отражает тему диссертации. В работе обоснована актуальность выбранной темы, определены цель и задачи исследования, представлены научная новизна, практическая значимость, дан глубокий теоретический анализ исследуемой проблемы, а также адекватно подобрана методическая база для проведения клинических и молекулярно-генетических исследований.

4.3 Цели и задачи соответствуют теме диссертации:

- 1) соответствуют;
- 2) частично соответствуют;
- 3) не соответствуют.

Целью работы является: определение роли генетических, молекулярных изменений и микробиологических факторов в рисках развития рака желудка и связанных с ними особенностей клинического течения в изучаемой популяции.

- Изучение полиморфизмов генов TNF α , IL1B, IL10, TP53 и CD14, герминальных мутаций гена CDH1 и выявление ассоциации с риском рака желудка у населения Республики Казахстан.

- Изучение экспрессии белка E-кадгерин у больных раком желудка и оценка взаимосвязи между уровнем экспрессии и распространенностью заболевания – регионарное лимфогенное метастазирование

- Изучение лимфогенной распространенности (отдаленное метастазирование) диффузного и интестинального рака желудка на клинических примерах.

- Изучение особенностей инфицирования *Helicobacter pylori* больных раком желудка по данным быстрого уреазного теста.

Цель и задачи соответствуют теме диссертационной работы. Задачи исследования направлены на исполнение цели работы. Диссертация включает 4 задачи, каждая из которых логично связана с предыдущей.

4.4. Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны:

- 1) полностью взаимосвязаны;
- 2) взаимосвязь частичная;
- 3) взаимосвязь отсутствует;

Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны, работа написана с соблюдением внутреннего единства. Задачи соответствуют целям исследования.

Диссертационная работа Штефанова И.И. изложена на 116 страницах машинописного текста, включая титульный лист, содержание, нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, основная часть, заключение, выводы, практические рекомендации и список использованных источников. В конце диссертации имеются приложения на 11 страницах. Научная работа иллюстрирована 58 рисунками, 7 таблицами, 4 приложениями. Сведения об использованной литературе при написании диссертации содержит 150 источников, на русском и английском языках.

4.5. Предложенные автором новые решения (принципы, методы), аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями:

- 1) критический анализ есть;
- 2) анализ частичный;
- 3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов

Диссертантом был проведен достаточный обзор литературы как зарубежных, так и отечественных литературных источников. Было выявлено, что несмотря на многочисленные исследования в области наследственных форм рака желудка в мире, исследований в данной области в Республике Казахстан не проводилось. Описанные в диссертационной работе клинические случаи отдаленного лимфогенного метастазирования рака желудка в паховые области в мировой и казахстанской литературе также не встречались. Взаимосвязь между диффузным раком желудка и *Helicobacter pylori* и роль этой инфекции в развитии диффузного рака желудка представлена скудной информацией как в иностранной литературе, так и на пространстве Центрально Азиатского региона. Данные, по вышеизложенным направлениям и полученные в ходе проведения диссертационной работы Штефанова И.И. являются новыми в изучаемой области, могут служить основой для проведения дальнейших научных исследований. Проведен

			критический анализ литературы в области изучаемой проблемы.
5.	Принцип научной новизны	<p>5.1. Научные результаты и положения являются новыми?</p> <p><u>1) полностью новые;</u></p> <p>2) частично новые (новыми являются 25-76 %)</p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25 %)</p>	<p>Полученные результаты и положения выносимые на защиту являются достаточно новыми:</p> <p>1. Создана панель для определения мутаций в генах TNFα, IL6, IL10, TP53, CD14 и CDH1 на основе секвенирования экзонов гена. Частота встречаемости мутаций зародышевой линии гена CDH1 составляет 1-3%. В нашем исследовании не было детектировано наличие мутаций в гене CDH1 у пробандов, лимитирующим этапом является количество группы исследования и строгое соответствие критериям отбора согласно требованиям IGCLC.</p> <p>2. Низкая, слабая или полное отсутствие экспрессии гликопротеина E-кадгерина повышает метастатический потенциал опухоли в лимфатические узлы.</p> <p>3. У больных, прооперированных по поводу рака желудка в объеме гастрэктомии с лимфодиссекцией D2, возможно ретроградное лимфогенное метастазирование в паховые лимфоузлы.</p> <p>4. Частота встречаемости <i>Helicobacter pylori</i> при диффузном раке желудка выше и инфицирует большее количество отделов желудка чем при интестинальном раке желудка и у людей, неотягощенных данным ЗНО.</p>
		<p>5.2 Выводы диссертации являются новыми?</p> <p><u>1) Полностью новыми;</u></p> <p>2) Частично новыми (новыми являются 25-75 %);</p> <p>3) Не новые (новыми являются менее 25 %).</p>	<p>В заключении диссертации приведены основные научные выводы, перечислены практические результаты и рекомендации, полученные в работе. Выводы, полученные автором, новые, научно обоснованные. Автором научной работы в условиях лаборатории коллективного пользования ИЦБ РК, совместно с коллективом данной лаборатории определены ассоциации с риском РЖ в</p>

			<p>гене р53 и позиции промотора гена IL-10, а также выявлен протективный эффект РЖ в 2-х промоторных позициях гена IL-10. В ходе исследования выявлена взаимосвязь между слабой экспрессией E-cadherin (полное или отсутствие окрашивания), глубиной инвазии при раке желудка и способностью опухолевых клеток к лимфогенному метастазированию. Выявлены случаи метастатического поражения паховых лимфоузлов при диффузном и интестинальном раке желудка, не подпадающие под общепринятую классификацию отдаленных лимфогенных метастазов. Частота встречаемости <i>Helicobacter pylori</i> при диффузном раке желудка выше и инфицирует большее количество отделов желудка чем при интестинальном раке желудка и у людей, неотягощенных данным ЗНО.</p>
		<p>5.3 Технические, технологические, экономические решения или управленческие решения являются новыми и обоснованными: 1) полностью новыми; 2) частично новыми; 3) не новые.</p>	<p>Получено свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом №12496, от 12 октября 2020 г. Форма внедрения: использование сформированных групп риска людей для индивидуализации лечения и профилактики наследственного диффузного рака желудка в практике врача-онколога. Получены свидетельства о внесении сведений в государственный реестр на объекты, охраняемые авторским правом №32154 от 31.01.23 и №32017 от 25.01.2023.</p>
6.	Обоснованность основных выводов	<p>Все основные выводы основаны/не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах</p>	<p>Основные выводы диссертационной работы основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах. Достоверность полученных результатов подтверждается современными методами исследования, методами статистической обработки данных и достаточным объемом материала (выводы 1, 2)</p>
7.	Основные положения, выносимые на защиту.	<p>Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности: 7.1 Доказано ли положение?</p>	<p>Научные положения взаимосвязаны с результатами исследования, отражены в выводах диссертационного исследования, являются новыми, доказанными и</p>

- 1) доказано;
 2) скорее доказано;
 3) скорее не доказано;
 4) не доказано.
 7.2 является ли тривиальным?
 1) да;
 2) нет.
 7.3 Является ли новым?
 1) да;
 2) нет.
 7.4 Уровень для применения:
 1) 1,3 выводы - узкий;
 2) средний;
 3) 2,4 - широкий.
 Доказано ли в статье?
 1) Да
 2) Нет

имеют научное применение в практическом здравоохранении и теоретической медицине. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научно-практических конференциях с международным участием, а также опубликованы: 3 – в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК (Астаналык медициналык журналы, Валеология, Медицина), 5 – в материалах международных научно-практических конференций; 3 – в изданиях, индексированных в международных информационных базах данных «Scopus» (Annals of Tropical Medicine, Electronic Journal of General Medicine, Bosnian journal of basic medical sciences); 1 – в республиканском журнале, 1 в «Научные отчеты о клинических случаях» (Acta Scientific Clinical Case Reports).

Автором доказаны следующие основные положения, выносимые на защиту:

1. 1) Создана панель для определения мутаций в генах TNF α , IL6, IL10, TP53, CD14 и CDH1 на основе секвенирования экзонов гена.

2. 2) Низкая, слабая или полное отсутствие экспрессии гликопротеина E-кадгерина повышает метастатический потенциал опухоли в лимфатические узлы.

3) У больных, прооперированных по поводу рака желудка в объеме гастрэктомии с лимфодиссекцией D2, возможно ретроградное лимфогенное метастазирование в паховые лимфоузлы.

4) Частота встречаемости *Helicobacter pylori* при диффузном раке желудка выше и инфицирует большее количество отделов желудка чем при интестинальном раке желудка и у людей, неотягощенных данным ЗНО.

8.	Принцип достоверности. Достоверность	Выбор методологии – обоснован. 1) <u>да</u> ;	Выбор методологии обоснован. На первом этапе диссертантом проведено проспективное когортное
----	--------------------------------------	--	---

источников и предоставляемой информации.

2) нет.

исследование стационарных больных, прооперированных в хирургическом отделении №2 ГКП на ПХВ «Многопрофильный медицинский центр» г. Астана. А именно проведено молекулярно-генетическое исследование на предмет наличия герминальных мутаций гена CDH1, однонуклеотидных мутаций в генах TNF α , IL6, IL10, TP53, CD14 в условиях лаборатории коллективного пользования Национального Центра Биотехнологии РК. Вторым этапом проведено проспективное исследование на базе патоморфологического отделения ГКП на ПХВ «ММЦ» г. Астана (иммуногистохимическое исследование с целью изучения уровня экспрессии белка E-кадгерин блоков и стеклопрепаратов больных диффузным и интестинальным раком желудка). В процессе вышеперечисленных этапов диссертационной работы выявлены особенности клинического течения диффузного и интестинального рака желудка, а именно: способность данного ЗНО метастазировать в паховые лимфоузлы. Дальнейшее исследование макропрепаратов (удаленных желудков) показало более частую встречаемость и более обширную инфицированность слизистой желудка *Helicobacter pylori* у больных диффузным раком желудка (проведено в условиях операционного блока и патоморфологического отделения ГКП на ПХВ «ММЦ» г. Астана.

Необходимо отметить, что диссертантом было бы не лишним исследовать транзиторную и пристеночную микрофлору.

<p>8.2. Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий:</p> <p>1) да; 2) нет.</p>	<p>Первичные нуклеотидные последовательности исследуемых образцов сравнивали с референсной последовательностью с использованием специализированного программного инструмента.</p> <p>Для анализа данных использовались статистическая обработка с использованием пакета анализа данных табличного процессора «Exelle 2016» Microsoft®Office для Windows, статистические параметры рассчитывались в программе R.</p>
<p>8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальными исследованиями (для направлений по педагогическим наукам, результаты доказаны на основе педагогического эксперимента):</p> <p>1) да; 2) нет.</p>	<p>Основные положения и выводы диссертационной работы доказаны и подтверждены результатами работы.</p> <p>Существенных замечаний к работе не выявлено. В целом диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается непротиворечивостью методологической базы, последовательностью в используемых приемах и методах анализа, концептуальностью и взаимосвязанностью выводов.</p>
<p>8.4 Важные утверждения</p> <p>1) подтверждены; 2) частично подтверждены; 3) не подтверждены ссылками на актуальную достоверную литературу.</p>	<p>Важные утверждения подтверждены ссылками на актуальную достоверную научную литературу.</p> <p>Основные положения и результаты проведенного исследования доложены диссертантом на международных научно-практических конференциях, международных образовательных форумах и конгрессах. Имеются публикации по теме исследования: 3 – в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК (Астаналық медициналық журналы, Валеология, Медицина), 5 – тезисы в материалах международных научно-практических конференций; 3 – в изданиях, индексируемых в международных информационных базах данных «Scopus» (Annals of Tropical Medicine, Electronic Journal of General Medicine, Bosnian journal of</p>

			basic medical sciences); 1 – в республиканском журнале, 1 в «Научные отчеты о клинических случаях» (Acta Scientific Clinical Case Reports).
		8.5	Использованные источники литературы (150) достаточны для литературного обзора данной диссертационной работы.
9.	Принцип практической ценности	9.1 Диссертация имеет теоретическое значение: 1) да; 2) нет.	<p>Диссертация имеет фундаментальный характер для будущего развития научных исследований в области изучения генетических особенностей предрасположенности к раку желудка населения РК. Создана база данных ДНК больных интестинальным и диффузным раком желудка, которую можно использовать в дальнейших научных исследованиях.</p> <p>Изучение механизмов лимфогенного метастазирования в зависимости от уровня экспрессии E-кадгерина в опухолевых клетках является наглядным примером, который можно использовать в учебном процессе изучения теоретических основ, вскрывающих молекулярные и клеточные механизмы распространения злокачественного процесса. Изучение кадгеринов и связанных с ними молекул, несомненно, является важным шагом в понимании механизмов опухолевой прогрессии и метастазирования. Способность злокачественных опухолей желудка ретроградно метастазировать в паховые лимфоузлы, у больных, прооперированных в объеме расширенной гастрэктомии, наглядно дополняет уже известный перечень отдаленных лимфогенных метастазов: метастаз Вирхова, метастаз Мари Джозеф, метастазы Крукенберга, метастаз Шницлера, ирландский узел. Общеизвестно, что локализация <i>Helicobacter pylori</i> при интестинальном раке желудка и у здоровых людей преимущественно затрагивает слизистую оболочку антрального, пилорических отделов. Новым теоретическим аспектом для</p>

		<p>диффузного рака послужило то, что <i>Helicobacter pylori</i> у пациентов младше 40 лет инфицирует не менее трех отделов желудка, что является новой и интересной закономерностью, вызывающей соответствующие вопросы в направлении этиологии данной особенности.</p>
	<p>9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике: <u>1) да;</u> 2) нет.</p>	<p>Практическая значимость: Данное научное исследование послужило причиной разработки панели, позволяющей выявлять мутации гена CDH1, TNFα, IL6, IL10, TP53, CD14 что можно использовать для проведения первичной профилактики наследственных форм рака желудка.</p> <p>Метастазирование является многоступенчатым процессом. Одной из наиболее значимых особенностей этого процесса является деформация адгезивных способностей неопластических клеток, опосредованная нарушением экспрессии кадгеринов. Что можно учитывать в практике как дополнительный негативный фактор прогноза для рака желудка.</p> <p>Особенности клинического течения больных с диагнозом рак желудка (диффузный, интестинальный), а именно метастазирование в подвздошные лимфоузлы (метастазы Шницлера), в яичники (метастазы Крукенберга) и метастазы в паховые лимфоузлы требует их своевременной диагностики.</p> <p>С учетом более частой встречаемостью инфекции <i>Helicobacter pylori</i> при диффузном раке желудка (100% инфицирование пациентов младше 40 лет) необходимо задуматься о возможной весьма вероятной этиологической роли данной инфекции для данной категории больных. Что ставит вопрос о необходимости эрадикации <i>Hp</i>-инфекции у людей, входящих в группу риска.</p>
	<p>9.3 Предложения для практики являются новыми? <u>1) полностью новые;</u></p>	<p>Предложения для практики и рекомендации в диссертационной работе являются новыми. Могут быть</p>

	2) частично новые; 3) не новые (новыми являются менее 25 %).	использованы в практическом здравоохранении. Эти предложения играют важную роль для организации полноценной помощи больным с диффузным и интестинальным раком желудка в Казахстане и могут быть важным дополнением для первичной, вторичной и третичной профилактики рака желудка.
10	Качество академического письма: 1) <u>высокое</u> ; 2) среднее; 3) ниже среднего; 4) низкое	Материал в диссертационной работе изложен грамотно с использованием научной терминологии, логически структурирован. Выдержан единый стиль в соответствии с поставленной целью и задачами исследования. В работе использованы актуальные на сегодняшний день источники литературы, позволяющие раскрыть общие положения диссертационной работы. В рамках темы был проведен обзор литературы с анализом современных научных данных по изученной проблеме. Качество написания и оформления диссертационной работы Штефанова И.И. высокое.

Кандидат биологических наук,
ассоциированный профессор (доцент),
ведущий научный сотрудник
Лаборатории микробиома Центр наук о жизни
National Laboratory Astana, Назарбаев Университет



Кожаметов С.С.