

## Отзыв официального рецензента

доктора медицинских наук, PhD, профессора, руководителя лабораторией геномной и персонализированной медицины, ЧУ «National Laboratory Astana» Назарбаев Университета А.Р.Акильжановой на диссертацию Афонаина Георгия Алексеевича на тему: «Молекулярно-генетический анализ развития колоректального рака у больных в возрасте до 50 лет», представленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 – «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	<p>1.1 Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам:</p> <p>1) <u>Диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета</u> (указать название и номер проекта или программы)</p> <p>2) Диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы)</p> <p>3) <u>Диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки, утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве</u></p>	<p>Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям развития науки (приоритет – развитие молекулярной биологии, генетики и биотехнологии для медицины и аграрного сектора), определенным Высшей научно-технической комиссией Республики Казахстан) с учетом потребностей социально-экономического развития страны и направлению (профилактика и управление факторами риска) Комплексного плана по борьбе с онкологическими заболеваниями на 2018-2022 годы, утвержденного постановлением Правительства Республики Казахстан № 395 от 29 июня 2018 г.</p> <p>Исследование осуществлялось в рамках следующих научно-технических программ:</p> <p>1. «Разработка эпигенетической тест-системы для диагностики колоректального рака в Казахстане» в рамках государственного заказа по бюджетной программе 055 «Научная и/или научно-техническая деятельность» Министерства образования и науки Республики Казахстан (сроки проведения исследования – 2015-2017 гг.).</p> <p>2. «Новые молекулярно-генетические способы досимптомной диагностики и лечения ряда значимых заболеваний (Молекулярно-генетический анализ колоректального рака на основе</p>

Республики Казахстан  
(указать направление)

секвенирования нового поколения)» по бюджетной программе 013 «Прикладные научные исследования в области здравоохранения» Министерства здравоохранения Республики Казахстан (сроки проведения исследования 2017-2019 гг.).

2. Важность для науки

Работа вносит/не вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта/не раскрыта

В современной онкологии успешное лечение пациентов зависит от ранней диагностики и мультидисциплинарного подхода. Применение молекулярно-генетической диагностики у лиц молодого возраста и пациентов с генетически отягощенным анамнезом, позволяет стратифицировать риск развития опухоли и осуществить раннюю (доклиническую) диагностику, и поэтому представляет научный и клинический интерес. Распространение в клинической онкологии получает мультигенное тестирование, возможности и области применения которого с каждым годом расширяются. В связи с вышеперечисленным, диссертационное исследование Афонина Г.А., посвященное молекулярно-генетическому анализу развития колоректального рака у лиц молодого возраста вносит существенный вклад в науку, а его важность раскрыта в основанных положениях, выносимых на защиту и доказана результатами исследования.

3. Принцип самостоятельности

Уровень самостоятельности:

- 1) Высокий;
- 2) Средний;
- 3) Низкий;
- 4) Самостоятельности нет

Диссертация Афонина Г.А. является законченной научно-исследовательской работой, выполненной автором самостоятельно, на высоком научном уровне, с соблюдением принципов методологии современного научного исследования и академической честности. В ходе работы над диссертацией автор проанализировал данные официальной статистики и эпидемиологические данные о заболеваемости колоректальным раком в мире и в Республике Казахстан, разработал дизайн и протокол исследования, осуществил лечение пациентов, сбор биологического материала (образцы крови), разработал документацию для систематизации первичных данных (анкета и индивидуальная регистрационная карта), сформировал банк ДНК пациентов и их родственников. Также автором проведены анализ, обобщение и интерпретация результатов секвенирования ДНК и

4. Принцип внутреннего единства

4.1 Обоснование актуальности диссертации:

- 1) Обоснована;
- 2) Частично обоснована;
- 3) Не обоснована.

4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации:

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

4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации:

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

4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны:

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

статистический анализ результатов.

Автор обосновал актуальность диссертационного исследования данными о заболеваемости и смертности от колоректального рака в мире и Республике Казахстан Международного Агентства по изучению рака (IARC) и Показателями онкологической службы Республики Казахстан. Показана тенденция роста заболеваемости колоректальным раком в общей популяции и в возрастной группе до 50 лет, высокая частота «поздних» стадий опухолевого процесса у лиц молодого возраста. также приведены современные данные ассоциативных геномных исследований известных мутаций с опухолевыми фенотипами и доказательства эффективности системы генетического скрининга для ранней диагностики при семейных и наследственных вариантах рака.

Приведенные в диссертации литературные данные и собственные результаты автора (эпидемиология, фенотипические особенности заболевания у больных в возрасте до 50 лет, результаты массивного параллельного секвенирования ДНК) находятся в логической связи с темой диссертации и отражают тему диссертации.

Цель диссертации (Оптимизация ранней диагностики и профилактики колоректального рака у лиц до 50 лет и с генетически отягощенным анамнезом) соответствует теме диссертации, поскольку становится достижима на основании реализации темы и решения поставленных исследователем задач.

Все разделы диссертации взаимосвязаны и находятся в логической последовательности. Полученные результаты и выводы диссертационного исследования достаточно иллюстрированы рядом диаграмм, таблиц и рисунков. Выводы, основанные на результатах исследования, фактически и логически связаны с материалами диссертации и подтверждаются статистическим анализом результатов исследования. Это позволяет признать достоверность полученных результатов, сформулированных выводов и положений, выносимых на защиту. Все разделы диссертации четко структурированы, написаны логично;

дают полное представление о целях каждого раздела исследования. Каждая глава завершается обоснованным заключением. Выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все поставленные задачи решены, выводы обоснованы, логично связаны с представленным материалом, дают основание для практических рекомендаций.

Автором представлены результаты изучения фенотипа и секвенирования ДНК молодых больных колоректальным раком с различными (семейными и спорадическим) вариантами заболевания и проведен критический анализ аналогичных результатов, опубликованных ранее. В разделе «Обсуждение результатов исследования» дана оценка ранее разработанным и внедренным в практику диагностическим панелям мультигенного тестирования для дифференциальной диагностики полипозов и идентификации случаев КРР, когда причиной рака могут быть мутации более чем в одном гене.

Научные результаты и основные защищаемые положения диссертации Афонина Г.А. являются новыми. На основании полученных результатов впервые в Республике Казахстан разработаны и внедрены алгоритмы для ранней диагностики и профилактики колоректального рака у лиц до 50 лет и с генетически отягощенным анамнезом. Автором идентифицировано и описано 9 новых, ранее не описанных патогенных мутаций, и 8 вариантов с неопределенным функциональным значением, ассоциированных с колоректальным раком и другими злокачественными опухолями.

Выводы работы соотносятся с целью диссертации и логично вытекают из поставленных задач. Все выводы за исключением одного (Вывод 2) являются принципиально новыми и отражают результаты самостоятельно проведенного автором исследования. Вывод 2, сделанный на основании результатов исследования, подтверждает большую частоту «запущенных» опухолей у пациентов молодого возраста по сравнению с пожилыми пациентами (в диссертации установлена большая частота III стадии у больных в возрасте до 50 лет

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

5.1 Научные результаты и положения являются новыми?

- 1) полностью новые;
- 2) частично новые (новыми являются 25-75%);
- 3) не новые (новыми являются менее 25%)

## 5. Принцип научной новизны

5.2 Выводы диссертации являются новыми?

- 1) полностью новые;
- 2) частично новые (новыми являются 25-75%);
- 3) не новые (новыми являются менее 25%)

по сравнению с больными старше 65 лет) и повышение частоты опухолей, локализующихся в правой половине толстой кишки с увеличением возраста. Эти данные подтверждаются результатами опубликованных исследований, проведенных ранее на репрезентативных когортах и являются достоверным научным фактом.

5.3 Технические, технологические, экономические или управленческие решения являются новыми и обоснованными:

- 1) полностью новые;
- 2) частично новые (новыми являются 25-75%);
- 3) не новые (новыми являются менее 25%)

Технические, технологические, экономические или управленческие решения не предусмотрены в рамках диссертационного исследования Афонина Г.А. ввиду его характера и содержания (аналитическое проспективное исследование, имеющее фундаментальный и клинический компоненты).

6. Обоснованность основных выводов

Все основные выводы основаны/не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам)

Все основные выводы и практические рекомендации основаны на тщательном и всестороннем анализе материала. Достоверность выводов обеспечена достаточным объемом материала и адекватно использованными методами статистического анализа. Следует отметить, что в работе на диссертацией Афонин Г.А. одним из первых из исследователей-онкологов использовал элементы байесовской статистики. До этого в Республике Казахстан в диссертациях по биомедицине эти методы не получали должного применения.

7. Основные положения, выносимые на защиту

Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности:

7.1 Доказано ли положение?

- 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) узкий;
- 2) средний;
- 3) широкий

7.5 Доказано ли в статье?

- 1) да;

Положение 1 доказано, не является тривиальным, является новым, уровень для применения – широкий, не доказано в статье, т.к. данные о заболеваемости колоректальным раком у лиц молодого возраста в Республике Казахстан не отражены в статье, посвященной анализу спектра мутаций у молодых больных. Материалы раздела 3.1 главы 3 обосновывают 1 основное положение и выводы 1,2,3.

Положение 2 доказано, не является тривиальным, является новым, уровень для применения – широкий, доказано в статье.

Положение 3 доказано, не является тривиальным, является новым, уровень для применения – широкий, не доказано в статье, т.к. данные об уровне консервативности участков генов, в которых выявлены патогенные мутации в

2) нет

связи с функциональной значимостью гена и характером мутаций, не рассмотрены в статье.

Положение 4 доказано, не является тривиальным, является новым, уровень для применения – широкий, доказано в статье. Идентифицированы ранее не описанные в литературе 9 новых патогенных мутаций в генах *FANCI*, *APC*, *BMPRIA*, *ATM*, *DICER1*, *NBN* и 8 новых вариантов с делегирующим эффектом в генах *ATM*, *NSD1*, *RBI*, *FANCD2*, *BLM*, *MSH2*, *DICER1*, *PMS1* (по данным *in silico* анализа), что определяет необходимость их дальнейшего изучения. Материалы разделов 3.6.1 и 3.6.2 главы 3 обосновывают 2,3,4 основное положение и выводы 4,5,6.

Положение 5 доказано, не является тривиальным, является новым, уровень для применения – широкий, доказано в статье. На основе молекулярно-генетического анализа разработаны и внедрены алгоритмы ранней диагностики и профилактики колоректального рака у лиц в возрасте до 50 лет и с генетически отягощенным анамнезом на основе молекулярно-генетического анализа. Указанные алгоритмы, в свою очередь, обоснованы, информативны и имеют большое значение для врачей-онкологов, позволяют проводить раннюю диагностику и профилактику колоректального рака у лиц молодого возраста и с наследственно отягощенным анамнезом с осуществлением лечебных мероприятий и индивидуализированного наблюдения. Материалы раздела 3.7 главы 3 обосновывают 5 основное положение и выводы 7,8.

Методология исследования подробно описана автором в разделе «Материалы и методы». В ходе исследования проведено масштабное секвенирование генома 185 пациентов с применением методологии секвенирования нового поколения на платформе MiSeq. Диссертационная работа дает представление о владении автором методологией научного исследования и статистическими методами анализа данных.

Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований (масштабное параллельное

8. Принцип достоверности источников и предоставляемой информации

8.1 Выбор методологии - обоснован или методология достаточно подробно описана

- 1) да;
- 2) нет

8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов

научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий:

- 1) да;
- 2) нет

секвенирование ДНК – секвенирование нового поколения), методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий (биоинформационный анализ с использованием программного обеспечения Variant Studio и Genome Analysis Toolkit) и ресурсов международных геномных баз данных (ClinVar, LOVD, InSiGHT, COSMIC). Для визуализации вариантов в процессе исследования было применено программное обеспечение Integrative Genomics Viewer.

8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием:

- 1) да;
- 2) нет

Теоретические выводы, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием, проведенным с применением секвенирования нового поколения и биоинформационного анализа, в том числе с применением методологии *in silico* анализа функционального значения генетических вариантов (SIFT и PolyPhen-2).

8.4 Важные утверждения подтверждены/частично подтверждены/не подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу

Подробный аналитический обзор литературы посвящен проблеме колоректального рака в молодом возрасте, результатам молекулярно-генетических исследований при наследственных и спорадических вариантах и подходам к оптимизации ранней диагностики, одним из которых является внедрение мультигенного тестирования и генетического скрининга.

8.5 Использованные источники литературы достаточно/не достаточно для литературного обзора

Использованные источники литературы достаточны для литературного обзора. Список литературы включает 267 источников. Из них большинство опубликовано за последние 10 лет в рецензируемых научных изданиях.

9.1 Диссертация имеет теоретическое значение:

- 1) да;
- 2) нет

Диссертация Афонина Г.А. имеет теоретическое значение, поскольку является первым в Республике Казахстан научным исследованием проблемы колоректального рака у больных молодого возраста. К настоящему времени результаты изучения данного направления в Республике Казахстан представлены в единичных публикациях. Впервые в Республике Казахстан изучены клинико-фенотипические особенности колоректального рака у лиц в возрасте до 50 и старше 65 лет с учетом пола, стадии заболевания, гистологического строения и

локализации опухоли, также впервые в Республике Казахстан на основе секвенирования нового поколения проведен молекулярно-генетический анализ патогенных мутаций и вариантов с неопределенным функциональным значением, ассоциированных с колоректальным раком у пациентов в возрасте до 50 лет.

Автором показана возможность на основании результатов секвенирования нового поколения идентифицировать случаи колоректального рака синдромальной и спорадической природы. Это позволяет стратифицировать уровень риска для пациента и его кровных родственников, модифицировать диагностические и терапевтические подходы и диспансеризацию. Известно, что мультигенное тестирование представляет собой экономически эффективный метод молекулярно-генетического анализа, поскольку позволяет одновременно анализировать множество генов, в том числе связанных с прогнозом и ответом на терапию. В связи с этим диссертация Афонина Г.А. имеет практическое значение и большой потенциал для дальнейшей практической разработки данного направления.

Предложения для практики являются новыми. Впервые в Республике Казахстан разработаны и внедрены алгоритмы ранней диагностики и профилактики колоректального рака у лиц в возрасте до 50 лет и с генетически отягощенным анамнезом на основании молекулярно-генетического анализа. Их применение предполагает идентификацию причинных мутаций и включение пациентов и их родственников в программу активного раннего выявления заболевания и профилактических мероприятий.

Диссертация Афонина Г.А. является законченной научно-исследовательской работой, выполненной автором самостоятельно, на высоком научном уровне, с соблюдением принципов методологии научного исследования и академической честности. Высокое качество академического письма, научный стиль изложения и правила оформления выдержаны в каждом разделе диссертационного исследования. Новые

9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике:

- 1) да;
- 2) нет

9.3 Предложения для практики являются новыми?

- 1) полностью новые;
- 2) частично новые (новыми являются 25-75%);
- 3) не новые (новыми являются менее 25%)

Качество академического письма:

- 1) высокое;
- 2) среднее;
- 3) ниже среднего;
- 4) низкое.

Качество  
10. написания и  
оформления



результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для науки и практики онкологии. Работа основана на достаточном количестве исходных данных, адекватном применении расчетов и методов анализа данных. В заключении работы сделаны обоснованные выводы, даны практические рекомендации. Диссертация оформлена грамотно, качественно, наглядно.

Официальный рецензент:



Акильжанова Айнура Рахметуловна  
Д.М.Н., PhD, профессор,  
руководитель Лаборатории геномной и  
персонализированной медицины, Центр наук о жизни,  
ЧУ “National Laboratory Astana”  
Назарбаев Университет,  
Нур-Султан, Казахстан

Подпись заверяю:

 (Акильжанова А.Р.)