

УТВЕРЖДАЮ

Проректор
по научной деятельности
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский
Университет), к.м.н.,



Д.В.Бутнору

«21 Октября» 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) о научно-практической значимости диссертационной работы Денисова Евгения Владимировича «Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы. Клинические и молекулярно-генетические особенности», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия

Актуальность темы исследования

Материалы диссертационной работы Денисова Евгения Владимировича «Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы. Клинические и молекулярно-генетические особенности» посвящены исследованию внутриопухолевой морфологической гетерогенности при раке молочной железы и ее связи с опухолевой прогрессией и эффективностью противоопухолевого лечения.

Противоопухолевое лечение включает раннюю диагностику, предсказание ответа на различные виды терапии и их персонализированное назначение, а также прогнозирование клинического течения заболевания. Эффективность его во многом зависит от внутриопухолевой гетерогенности, т.е. выраженности биологических различий между опухолевыми клетками. Понимание механизмов и поиск факторов, влияющих на формирование гетерогенности опухолевых клеток, является ключом для разработки новых и перспективных методов лечения онкологических больных.

Рак молочной железы является одним из типов злокачественных новообразований, демонстрирующих высокую степень внутриопухолевой гетерогенности. Вариабельность рецепторного статуса опухолевых клеток и экспрессии поверхностных маркёров на протяжении многих лет учитывается при молекулярной классификации рака молочной железы по подтипам и назначении специфического для каждого из подтипов лечения. Однако даже такой терапевтический подход часто приводит к различной эффективности лечения, вероятно, ввиду гетерогенности внутри молекулярных подтипов данного заболевания.

Внутриопухолевая гетерогенность проявляется на различных молекулярных уровнях, опухолевые клетки отличаются друг от друга генетическим, эпигенетическим и фенотипическим профилями. В случае генетической гетерогенности опухолевые клетки несут специфические наборы генных и хромосомных мутаций, которые, накапливаясь в процессе клеточного деления, приводят к формированию опухолевых субклонов, различающихся по степени ответа на терапию и инвазивному и метастатическому потенциалам. Однако, опухолевые клетки, содержащие одинаковые генетические нарушения, могут также отличаться друг от друга ввиду наличия специфических эпигенетических изменений или влияния со стороны микроокружения. В целом, генетические и эпигенетические нарушения, стохастические изменения биохимического аппарата, опухолевое микроокружение и др. факторы могут приводить к фенотипическим и

морфологическим/гистологическим различиям среди опухолевых клеток. Тем не менее, информация о факторах и механизмах формирования внутриопухолевой морфологической гетерогенности злокачественных новообразований, представленной разнообразными вариантами инвазивного компонента, крайне скудна, несмотря на её значительный вклад в эффективность лечения и опухолевую прогрессию.

Не является исключением и внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы, представленная наличием пяти основных типов морфологически-обособленных структур опухолевых клеток - тубулярных, альвеолярных, солидных, трабекулярных и дискретных. Несмотря на известную диагностическую значимость, в частности тубулярных структур в определении степени злокачественности рака молочной железы, и показанное клиническое значение других морфологических структур в отношении эффективности химиотерапии, метастазирования и рецидивирования, природа такого морфологического разнообразия остаётся совершенно неизученной.

В диссертационной работе Денисова Евгения Владимировича проведён детальный анализ молекулярного портрета различных морфологических структур инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа и их ассоциации с особенностями опухолевого микроокружения с целью идентификации факторов, вовлеченных в формирование внутриопухолевой морфологической гетерогенности и определяющих её клиническую значимость.

**Новизна диссертационного исследования,
полученных результатов, сформулированных выводов и рекомендаций**

В данной работе впервые изучена молекулярная и клеточная природа внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы. Автором показано, что внутриопухолевая морфологическая гетерогенность не связана с хромосомными aberrациями, но ассоциирована с наличием и

количеством CD44+CD24⁻ опухолевых стволовых клеток, которые преобладают в альвеолярных структурах и практически отсутствуют в дискретных группах опухолевых клеток. Микроокружение различных морфологических структур отличается друг от друга по представленности различных популяций макрофагов и фибробластов. В целом, тубулярные, альвеолярные, солидные, трабекулярные структуры и дискретные группы представляют собой транскрипционно-обособленные популяции опухолевых клеток, отличающиеся друг от друга по экспрессии генов эпителиально-мезенхимального перехода и химиорезистентности. Такие молекулярные особенности, вероятно, обуславливают установленный в данной работе вклад внутриопухолевой морфологической гетерогенности в риск гематогенного метастазирования, безметастатическую выживаемость и эффективность неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы. Таким образом, различные морфологические структуры являются проявлением эпителиально-мезенхимальной пластичности/стволовости опухолевых клеток, находящейся в тесной взаимосвязи с иммунным и стромальным составом опухолевого микроокружения и ассоциированной с отдаленным метастазированием и эффективностью химиотерапии.

Детальный анализ транскрипционных особенностей морфологических структур позволил впервые выделить гены *KIF14*, *SPATA18* (MIEAP) и *EZR*, дифференциально-экспрессирующиеся в солидных и трабекулярных структурах, показавших значительную выраженность сигнальных путей клеточной миграции и инвазии. Иммуногистохимический анализ экспрессии белков KIF14, MIEAP и EZR позволил выявить новый вариант инфильтративного компонента рака молочной железы, представленный торпедоподобными структурами, и их прогностическую ценность в плане ассоциации с частотой гематогенного метастазирования и безметастатической выживаемости больных раком молочной железы. Таким образом, в диссертационной работе впервые обоснована привлекательность

внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы как модели для идентификации новых прогностических маркеров.

По результатам диссертационной работы получено два патента, связанных с предсказанием риска гематогенного метастазирования рака молочной железы: № RU 2623150 от 22.06.2017 г. «Способ прогнозирования гематогенного метастазирования при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы у пациенток с плохим ответом на неоадьювантную химиотерапию» и № RU 2627649 от 09.08.2017 г. «Способ прогнозирования гематогенного метастазирования при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы у пациенток с хорошим ответом на неоадьювантную химиотерапию».

Значимость полученных результатов для науки и практики

В диссертационной работе проведён многосторонний анализ молекулярного портрета различных морфологических структур рака молочной железы, представленности в них опухолевых стволовых клеток и особенностей их микроокружения. На основании полученных результатов идентифицированы транскрипционные сигнатуры каждого типа структур, связанные с эпителиально-мезенхимальной пластичностью, химиорезистентностью и регуляцией иммунвоспалительных реакций в опухолевом микроокружении, и объясняющие природу внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы и её связь с эффективностью химиотерапии и опухолевой прогрессией. В целом, результаты исследования указывают на то, что морфологическое разнообразие в пределах ткани опухоли молочной железы является следствием различных паттернов коллективной и индивидуальной инвазии опухолевых клеток, реализующихся посредством эпителиально-мезенхимального перехода.

Полученные результаты на большей группе больных раком молочной железы, позволили сформулировать практические рекомендации для оценки

вероятности отдалённого метастазирования на основе учёта различных морфологических структур в опухолевой ткани. При этом для пациентов с наличием ответа на неoadъювантную химиотерапию риск метастазирования связан с наличием трабекулярных структур, тогда как у больных с плохим ответом, метастазы чаще выявляются при содержании в ткани опухоли альвеолярных структур. Данный феномен лишней раз подчёркивает наличие различных механизмов метастазирования рака молочной железы, реализующихся, в частности, через участие опухолевых стволовых клеток, в большем количестве содержащихся в альвеолярных структурах, или посредством эпителиально-мезенхимального перехода, сигнатуры которого отчётливо просматриваются в трабекулярных структурах.

Ассоциация внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы с эпителиально-мезенхимальной пластичностью, инвазивным и метастатическим потенциалом и химиорезистентностью, а также полученные данные полнотранскриптомного профилирования опухолевых клеток, входящих в состав различных морфологических структур, являются эффективным инструментом для идентификации прогностических факторов и потенциальных терапевтических мишеней. В частности, в диссертационной работе на примере детального анализа транскриптома солидных и трабекулярных структур выделены гены *KIF14*, *SPATA18* и *EZR*, экспрессия которых на белковом уровне позволила обнаружить новый тип инвазивного компонента опухоли молочной железы – торпедоподобные структуры. Дифференциальная активность этих белков наблюдалась на концах данного типа структур, вероятно, маркируя инвазивный фронт и их вовлеченность в процессы миграции и инвазии опухолевых клеток, что подтверждается результатами секвенирования РНК, и оказалась связанной с частотой гематогенного метастазирования и безметастатической выживаемостью больных раком молочной железы. Таким образом, внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы может также использоваться для изучения механизмов

миграции и инвазии опухолевых клеток и выявления молекул, воздействие на которые позволит снизить вероятность метастазирования рака молочной железы.

Данные, полученные в результате проведенного исследования позволят сформировать платформу для разработки новых высокоинформативных критериев предсказания эффективности химиотерапии и оценки риска прогрессирования РМЖ и поиска новых терапевтических мишеней.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Основное содержание работы изложено в 63 печатных работах, из них 18 в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК РФ, 1 отечественной монографии и материалах конгрессов и конференций: региональных – 2, российских – 11, международных – 9 и зарубежных – 21.

Достоверность полученных результатов, сформулированных выводов и научных положений определяется достаточным и репрезентативным объёмом обработанного материала, в частности изучением клинических, морфологических и молекулярных данных 700 пациентов с раком молочной железы, прошедших лечение в период с 1990 по 2015 гг. Объективность научных данных основана на использовании общепринятых гистологических и молекулярно-генетических методов, адекватной статистической обработке и детальном анализе опубликованных работ.

Получено одно свидетельство о государственной регистрации базы данных молекулярно-морфологических характеристик опухоли и клинических параметров у пациентов с раком молочной железы (№ 2018620127 от 19.01.2018 г.).

В диссертации соискателя отсутствуют заимствования материалов или отдельных результатов без ссылок на автора или источник заимствования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные результаты диссертационного исследования об ассоциации внутриопухолевой морфологической гетерогенности с риском гематогенного метастазирования рака молочной железы могут в перспективе использоваться в практической деятельности онкологических учреждений страны, специализирующихся на оказании помощи больным раком молочной железы и имеющих оборудование для гистологических и иммуногистохимических исследований.

Материалы диссертационной работы могут быть использованы в образовательных программах кафедр онкологии и магистерских программах по профилю “молекулярная и трансляционная медицина”, образовательных учреждений системы высшего и дополнительного образования.

Полученные Денисовым Е.В. результаты, научные положения и практические рекомендации внедрены в практику НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ Российской академии наук».

Общая характеристика работы, достоинства и недостатки в содержании и оформлении

Диссертационная работа Денисова Евгения Владимировича написана в традиционном стиле и изложена на 256 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 9 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 22 отечественных и 336 зарубежных источника, и приложения. Работа иллюстрирована 26 таблицами и 41 рисунком.

Заключение обобщает полученные данные. Выводы логически вытекают из результатов исследования и полностью соответствуют сформулированной цели и задачам. Практические рекомендации ясны и понятны. Список

литературы полностью соответствует тексту. Приводятся потенциальные направления дальнейшего развития данной темы.

Автореферат отражает основные результаты диссертации, содержит информативные иллюстрации и оформлен в соответствии с регламентирующими документами.

Принципиальных замечаний диссертационная работа не содержит. В тексте автореферата и диссертации имеются стилистические ошибки и опечатки. Работа заслуживает положительной оценки.

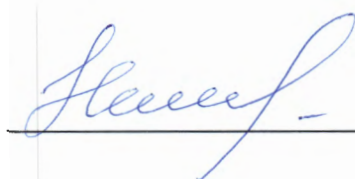
Заключение

Диссертационная работа Денисова Евгения Владимировича на тему «Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы. Клинические и молекулярно-генетические особенности», представленная на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, является законченным самостоятельным исследованием, направленным на решение актуальной научной проблемы онкологии – идентификацию факторов, вовлечённых в формирование внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы и оценку её вклада в эффективность лечения и риск прогрессирования данного заболевания. По объёму проведённых исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» Постановления Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции от 30.07.2014 г. № 723, 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, 29.05.2017 г. № 650, 28.08.2017 г. № 1024, 26.05.2020 № 751, 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия.

Диссертационная работа Денисова Е.В. «Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы. Клинические и молекулярно-генетические особенности» и отзыв ведущей организации обсужден и одобрен на заседании кафедры онкологии радиотерапии и реконструктивной хирургии (протокол № 10/01 от 6 октября 2022 г.)

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных.

Заведующий
лабораторией медицинской генетики
Института молекулярной медицины
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова
Минздрава России
д.б.н., профессор



М.В. Немцова

Подпись д.б.н., профессора Немцовой М.В. заверяю

Учёный секретарь
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова
Минздрава России
д.м.н., профессор



О.Н. Воскресенская

ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
Тел.: (499) 248-05-53
Email: rektorat@sechenov.ru
Официальный сайт: <https://www.sechenov.ru/>