

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, Боженко Владимира Константиновича, заведующего отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Палтуева Руслана Маликовича «Биологическое обоснование индивидуализации лечения рака молочной железы» на соискание степени доктора медицинских наук по специальности

3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы диссертационного исследования

Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой гетерогенную группу опухолей с различными гистологическими формами, молекулярными свойствами, клиническими особенностями и результатами лечения. Анализ этих параметров на индивидуальном уровне должен улучшать результаты лечения пациента, влияя тем самым на качество жизни и выживаемость. Имеется целый ряд доказательств того, что прогностических факторов, используемых в рутинной клинической практике, недостаточно для адекватного отражения биологической гетерогенности опухолей.

К настоящему времени по результатам ретроспективных исследований предложено несколько прогностических и предиктивных тестов, основанных на оценке экспрессии генов: Oncotype DX, MammaPrint, PAM 50, Глобал Индекс РМЖ. Однако внедрение молекулярно-генетического профилирования опухоли в рутинную практику затруднено из-за высокой стоимости большинства тестов и отсутствия полученных в исследованиях доказательств их предиктивной ценности для выбора системного лечения при метастатическом и местно-распространённом РМЖ. Для практического здравоохранения представляют важность новые научные данные, практические рекомендации и разработки в данной области.

Таким образом, работа Палтуева Р.М., посвященная биологическому обоснованию персонализированного подхода к терапии РМЖ, релевантна актуальным научным и практическим задачам, стоящим перед современной онкологией.

Научная новизна диссертационного исследования

В рамках настоящего исследования впервые в Российской Федерации выполнено ретроспективное изучение биологических, морфологических и иммуногистохимических характеристик РМЖ на репрезентативной выборке с длительным периодом наблюдения. В ходе работы проведена стратификация пациентов по группам риска летального исхода, осуществлена комплексная оценка прогностической значимости отдельных факторов и их комбинаций, определены наиболее информативные предиктивные маркеры. Созданы традиционная (на основе рутинных маркеров) и регрессионная (на основе малоизученных маркеров) прогностические шкалы. Впервые создана оригинальная мультигенная сигнатура, позволяющая определять лечебно-ориентированные кластеры. С использованием технологии nCounter проведена оценка экспрессии 28 генов с высокой предиктивной значимостью (*ESR1*, *PGR*, *PIK3CA*, *BCAR4*, *BCAS2*, *CCND1*, *CCND2*, *CCND3*, *FOXA1*, *ERBB2*, *EGFR*, *CDH3*, *FOXC1*, *KRT14*, *KRT5*, *CD274*, *CDK4*, *CDK6*, *P53*, *PTEN*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *CLDN3*, *CLDN7*, *AR*, *TOP2a*, *TUBBIII*) и сравнение полученных с результатов с данными локальных лабораторий. Для каждого из выбранных генов описаны уровни экспрессии, соответствующие оценкам «+1», «+2» и «+3». Для генов *ESR1* и *ERBB2* оценена корреляция *ESR1*/ЭР и *ERBB2*/HER2 и обозначены диапазоны уровней экспрессии, соответствующие ложноположительным и ложноотрицательным результатам ИГХ исследований статуса опухоли в отношении ЭР и HER2 рецепторов. Для генов *ESR1* и *ERBB2* показана корреляция результатов ИГХ исследования с данными ИГХ исследования для ЭР и HER2 статуса соответственно. Изучены индивидуальные молекулярно-генетические профили опухолевых образцов, имеющих одинаковый суррогатный подтип по данным ИГХ анализа.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Диссертационная работа Палтуева Р.М. «Биологическое обоснование индивидуализации лечения рака молочной железы» является законченным научным исследованием.

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным объемом материала и использованием современных

методик гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований.

Ретроспективный анализ данных 1216 пациенток из канцер-регистра с последующими проспективными гистологическими, иммуногистохимическими (ИГХ) и молекулярно-генетическими исследованиями образцов ткани пациенток с РМЖ позволили заключить, что уровни экспрессии стероидных гормонов, HER2, Ki-67, CK5, CK14, EGFR, PDL и FOXA1 демонстрируют высокую прогностическую значимость у пациенток с T1-2N0M0 РМЖ. На основе полученных данных с использованием однофакторного и многофакторного статистического анализа были созданы традиционная и регрессионная прогностические шкалы, проведена оценка выживаемости в группах низкого, среднего и высокого риска, а также анализ эффективности адъювантной терапии.

Изучение литературных данных и выполненные работы по оценке клинической значимости маркеров прогностических шкал позволили разработать оригинальную молекулярную экспрессионную панель генов, для решения ряда практических задач. В рамках данной части работы автором был проведен молекулярно-генетический анализ с использованием технологии nCounter 84 образцов опухоли пациенток пре- и постменопаузального возраста с метастатическим РМЖ.

Для каждого из 28 генов высокой предиктивной ценности в исследуемой выборке образцов опухоли описаны уровни экспрессии, соответствующие оценкам «+1», «+2» и «+3». Для генов *ESR1* и *ERBB2* оценена корреляция *ESR*/ЭР и *ERBB2*/HER2 и обозначены диапазоны уровней экспрессии, соответствующие ложноположительным и ложноотрицательным результатам ИГХ исследований статуса опухоли в отношении ЭР и HER2 рецепторов. Изучение индивидуальных молекулярно-генетических профилей опухолевых образцов, имеющих одинаковый суррогатный подтип по данным ИГХ анализа, выявило случаи клинически значимых различий характеристик опухоли, несмотря на сопоставимый результат оценки на основании ИГХ анализа.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на большом количестве Российских и международных конференций.

По результатам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 12 – в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук. По результатам работы получено 4 патента на изобретение РФ. Результаты работы вошли в клинические рекомендации РООМ 2018 г. по диагностике и лечению рака молочной железы (М.: ИД «АБВ-пресс», 2018).

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Результаты проведенного исследования представлены в исчерпывающем объеме, сопровождаются репрезентативным набором табличных и графических материалов, полностью соответствуют обозначенным цели и задачам работы, а также обладают значительной научно-практической ценностью. Сформулированные в диссертации выводы логически вытекают из полученных данных и имеют убедительное теоретико-методологическое обоснование. Адекватный объем выборки, применение современных методологических подходов и корректное использование методов статистического анализа обеспечили решение поставленных исследовательских задач, концептуальную обоснованность выносимых на защиту положений, а также достоверность полученных выводов. На основании результатов исследования разработаны практические рекомендации, обладающие высоким потенциалом внедрения в клиническую практику.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

На основе результатов изучения индивидуальных клинических, гистологических, морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик РМЖ разработаны прогностические шкалы и мультигенная панель для обеспечения персонализированного подхода к назначению системного лечения РМЖ. Продemonстрировано, что молекулярно-генетическое профилирование опухоли является более точным методом определения подтипа опухоли у пациенток с мРМЖ в сравнении с рутинным суррогатным иммуногистохимическим исследованием.

Результаты исследования внедрены в клиническую и научную практику отделения опухолей молочной железы, хирургического отделения опухолей молочной железы, научной лаборатории морфологии опухолей и патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (акты внедрения от 04.09.2018, 17.09.2019, 31.05.2021, 17.01.2022).

Материалы диссертационного исследования использованы при подготовке клинических рекомендаций Российского общества онкомаммологов (ROOM) и используются в научно-клинической деятельности ряда медицинских учреждения Российской Федерации.

Объем и структура диссертации, оценка ее завершенности в целом

Диссертационная работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания программы исследования, материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, списка сокращений и иллюстративного материала. Объем диссертации – 260 страниц. Список литературы включает 387 источников, из них 14 отечественных и 373 зарубежных. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 74 рисунками.

Во **введении** приведены сведения об актуальности данного исследования, сформулированы цель и задачи, подчеркнута научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены данные о личном вкладе автора и внедрении результатов исследования, вынесены основные положения диссертации.

В обзоре литературы приведены данные исследований последних лет.

Продемонстрирован целый ряд доказательств того, что прогностических факторов, используемых в рутинной клинической практике, недостаточно для адекватного отражения биологической гетерогенности опухолей, а опухоли со сходными морфологическими свойствами могут существенно отличаться с точки зрения течения заболевания и ответа на лечение.

В обзоре приведено описание наиболее распространенных мультигенных сигнатур. Обоснована актуальность создания и исследования диагностической эффективности мультигенной сигнатуры, включающей молекулярные подтипы и прогностические кластеры. В тоже время, этот раздел литературного обзора не

включает анализ недостатков, существующих и применяющихся в клинической практике методов прогноза, основанных на анализе экспрессии генов. Недостатком также является отсутствие анализа отечественной литературы, посвященной этой теме, в то время как ряд научных учреждений активно занимается исследованием в данной области.

С другой стороны раздел, посвященный рассмотрению клинической значимости отдельным молекулярным признакам (генов), избранных автором для создания экспрессионной панели кажется изложен с излишней подробностью. В целом, литературный обзор изложен хорошим литературным языком и отражает глубокое понимание автором исследуемой проблематики.

По результатам Литературного обзора автором формулируются цель и задачи исследования.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» содержит описание программы, методов исследования и исходных характеристик исследуемой популяции.

Ретроспективное когортное одноцентровое исследование с проспективным пересмотром блоков опухоли включало анализ данных 1216 пациенток с РМЖ T1-2N0M0 из канцер-регистра ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, гистологическое и иммуногистохимическое исследование архивного материала данных пациенток с целью последующей разработки прогностических шкал.

Молекулярно-генетическое исследование образцов ткани рака РМЖ проводили в рамках проспективного когортного многоцентрового исследования с участием 6 онкологических учреждений Российской Федерации. Всего проанализировано 84 образца опухолевой ткани пациенток с метастатическим РМЖ. У всех пациенток было получено письменное согласие на исследование образцов. Назначение лекарственной терапии проводилось лечащим врачом по данным ИГХ на основании Клинических рекомендаций Министерства здравоохранения Российской Федерации «Рак молочной железы».

В данной части исследования в образцах опухолевой ткани изучали мРНК экспрессию 28 генов. Выбор генов основывался на результатах изучения данных

литературы и опыта разработки других мультигенных структур, а также клинической значимости маркеров прогностических шкал.

Анализ экспрессии генов проводили с использованием технологии nCounter, основанной на прямой цифровой детекции мишеней с помощью флуоресцентных штрих-кодов (nCounter Analysis System компании NanoString).

Результаты были анализированы с применением адекватных методов статистического анализа данных.

Глава 3 посвящена результатам собственных исследований и их обсуждению.

Разделы 3.1–3.6 главы описывают результаты оценки прогностической и предиктивной значимости клинических, гистологических, морфологических и иммуногистохимических факторов и разработку прогностических шкал. Этот раздел представляет несомненный интерес, т.к. автору удалось создать оригинальные методы прогноза летального исхода, ранее не описанные в литературе. Им произведен подробный анализ факторов, включенных диагностическую панель и обсуждены результаты.

Раздел 3.7 описывает результаты части работы, посвященной молекулярной диагностике РМЖ.

Мультигенная сигнатура состоит из 28 генов. В рамках исследования сравнивали молекулярный подтип опухоли, определенный с помощью мультигенной сигнатуры PAM50, и результаты, полученные при проведении ИГХ исследования. Автором проведен подробный молекулярно-генетический анализ с использованием технологии nCounter 84 образцов опухоли пациенток пре- и постменопаузального возраста с метастатическим РМЖ, в рамках которого была проведена оценка экспрессии 28 генов с высокой предиктивной значимостью (*ESR1*, *PGR*, *PIK3CA*, *BCAR4*, *BCAS2*, *CCND1*, *CCND2*, *CCND3*, *FOXA1*, *ERBB2*, *EGFR*, *CDH3*, *FOXC1*, *KRT14*, *KRT5*, *CD274*, *CDK4*, *CDK6*, *P53*, *PTEN*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *CLDN3*, *CLDN7*, *AR*, *TOP2a*, *TUBBIII*) Автор выявил 29 случаев (29/84, 34,5 %) расхождения оценки подтипа опухоли в сравнении с результатами ИГХ исследования, из них в 18 случаях (18/84, 21%) расхождения относились к подтипам опухоли РМЖ, для которых рекомендуются принципиально различные схемы химиотерапии. В 11 случаях расхождения относились к люминальным А и В

подтипам РМЖ, что может оказать влияние на выбор оптимальной лекарственной терапии, однако при любой тактике назначенное лечение будет соответствовать утвержденным клиническим рекомендациям.

Изучение образцов опухолевой ткани с использованием технологии nCounter позволило описать для каждого из выбранных 28 генов уровни экспрессии, соответствующие оценкам «+1», «+2» и «+3».

Для генов *ESR1* и *ERBB2* показана корреляция результатов ИГХ исследования с данными ИГХ исследования для ЭР и HER2 статуса соответственно.

Кроме того, выполненные работы позволили установить для генов *ESR1* и *ERBB2* диапазоны уровней экспрессии, соответствующие ложноположительным и ложноотрицательным результатам ИГХ исследований статуса опухоли в отношении ЭР и HER2 рецепторов, что позволяет обеспечить выбор оптимальной тактики лечения.

Изучение индивидуальных молекулярно-генетических профилей опухолевых образцов, имеющих одинаковый суррогатный подтип по данным ИГХ анализа (HER2–, ЭР+ статус и HER2– и ЭР–статус), выявило случаи клинически значимых различий характеристик опухоли, несмотря на сходный результат оценки на основании ИГХ анализа.

Полученные результаты продемонстрировали, что молекулярно-генетическое профилирование опухоли с использованием мультигенной сигнатуры является точным методом определения подтипа опухоли у пациенток с РМЖ, что определяет возможность индивидуализации тактики лекарственной терапии.

В заключении автором обсуждены результаты собственных исследований, в том числе в сравнении с последними научными литературными данными.

Большинство Выводов хорошо обоснованы и соответствуют поставленной цели и задачам.

В тоже время, вывод 8 автора требует дополнительного уточнения, т.к. в диссертационной работе недостаточно информации для формулировки вывода в той форме, какую использовал автор. Формулировка - «Создана 100-генная мультигенная сигнатура...» не имеет подтверждения ни в главе, описывающей

методы, ни в главе «Результаты исследований», результаты позволяют сделать вывод о созданной панели из 28 генов.

Практические рекомендации соответствуют выводам и основным положениям проведенного исследования. В тоже время необходима также корректировка рекомендаций, т.к. автором обозначено, что разработанная мультигенная сигнатура из 100 генов, обладающих высокой предиктивной и прогностической значимостью, может использоваться для персонализированного подхода к назначению системного лечения РМЖ, **в то время как на основании представленных в диссертационной работе данных необходимо говорить о 28 генной панели.**

В главе «Перспективы разработки данной темы» отражена актуальность продолжения исследований мультигенной сигнатуры с целью более глубокого изучения характеристик опухолевого процесса и разработки рекомендаций по персонализации лечения РМЖ. В частности, представляются важными исследования всех предиктивных и прогностических компонентов сигнатуры, сопоставления результатов оценки экспрессии отдельных генов с помощью технологии nCounter с данными методов по выявлению мутаций в генах и новые исследования по оценке диагностической эффективности мультигенной сигнатуры при различных стадиях и подтипах РМЖ.

Список литературы соответствует ссылкам в тексте диссертации.

Диссертационная работа характеризуется логической последовательностью изложения, академическим языком, информативностью иллюстративного материала. Материалы диссертации полностью отражены в автореферате, который соответствует требованиям ВАК РФ.

Замечания.

Вызывает вопрос сформулированное автором утверждение в разделе «Новизна исследования», что им впервые в России выделены подтипы РМЖ (люминальный А, люминальный В, базальный). Учитывая огромное количество публикаций по данному вопросу в отечественной литературе, хотелось бы получить комментарии автора относительно его вклада в формулировки молекулярных подтипов РМЖ.

К некоторым формулировкам Цели и задач исследования есть ряд вопросов, так автор, в тексте задачи 3 использует выражение «определить прогностическое значение малоизученных ИГХ маркеров», к которым автор относит такие показатели как p53 или CD4 и другие, которое не отражает существующее состояние вопроса, т.к. все перечисленные показатели как раз относятся к «хорошо» изученным для рака молочной железы, например количество ссылок в интернете на сочетание «p53 breast cancer pathology» превышает 1,5 миллиона, а такое же сочетание с EGFR – более 2.4 миллиона ссылок.

В главе Результаты весь анализ и ИГХ и молекулярных (экспрессионных) показателей направлен на прогноз летальных исходов, в тоже время все существующие в мире предиктивные панели, используемые для корректировки адъювантной терапии в качестве показателя прогноза оценивают риск наступления рецидива (безрецидивную выживаемость). Автор нигде в тексте не обсуждает, вопрос допустимости использования оценки риска летального исхода для для корректировки адъювантной терапии и преимущества такого подхода, по сравнению с оценкой риска наступления рецидива.

Также вызывает вопрос Вывод 8 , сформулированный как, «Впервые создана 100-генная мультигенная сигнатура, включающая молекулярные подтипы РМЖ (люминальный А, люминальный В, базальный) и лечебно-ориентированные кластеры. Мультигенная сигнатура включает пролиферативно-референсную часть (58 генов), лечебно-ориентированную часть (37 генов) и референс (5 генов)». Формулировка вывода о создании именно 100-генной панели не имеет достаточного документального подтверждения в тексте диссертации и кажется не корректной. На основании имеющихся в диссертации результатов можно говорить о создании 28 генной панели.

В тоже время, приводимые замечания не являются критическими и, в целом, диссертация является законченным квалификационным трудом.

Заключение

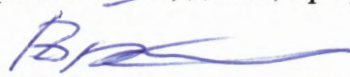
Таким образом, диссертация Палтуева Руслана Маликовича «Биологическое обоснование индивидуализации лечения рака молочной железы», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия, является завершенной научно-

квалификационной работой, теоретические и практические положения которой можно квалифицировать как решение важной проблемы, связанной с обоснованием необходимости применения персонализированного подхода в лечении рака молочной железы, что позволит повысить эффективность системного лечения и снизить количество необоснованных назначений.

Диссертационная работа Палтуева Руслана Маликовича «Биологическое обоснование индивидуализации лечения рака молочной железы» соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 11 сентября 2021 года № 1539), предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

Заведующий отделом молекулярной биологии
и экспериментальной терапии опухолей
ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии»
Минздрава России, д.м.н., профессор

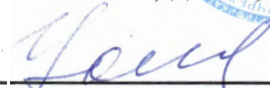
 В.К. Боженко
« 02 » июня 2025 г.

Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных.

Подпись д.м.н., профессора Боженко Владимира Константиновича

ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь
ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии»
Минздрава России, д.м.н., профессор

 З.С. Цаллагова

Контактная информация:

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии»
117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86
Тел. раб. 8 (499) 120-11-14, E-mail: vbojenko@mail.ru