

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, заведующего лабораторией онкоабдоминальной патологии Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» Шмака Андрея Ивановича на диссертационную работу Шляхтунова Евгения Александровича «Минимальная остаточная болезнь при раке молочной железы – диагностика и лечение», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Шляхтунова Евгения Александровича «Минимальная остаточная болезнь при раке молочной железы – диагностика и лечение», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук посвящена минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих раком молочной железы ее молекулярно-генетической диагностике, а также оптимизации лечебной тактики данной категории пациентов, результатом которого стало разработка, обоснование и внедрение в клиническую практику нового метода оценки эффективности адъювантной химиотерапии с использованием разработанных оригинальных тест-систем, а также нового метода адъювантной терапии минимальной остаточной болезни. Цель исследования, формулировка задач, основных положений и выводов диссертации, а также название работы – «Минимальная остаточная болезнь при раке молочной железы – диагностика и лечение» свидетельствуют о ее полном соответствии отрасли медицинские науки и специальности 14.01.12 – онкология.

Актуальность темы диссертации

В течение последних десятилетий в большинстве как развитых, так и развивающихся стран мира отмечается неуклонный рост заболеваемости раком молочной железы (РМЖ). Это одна из самых частых онкологических патологий и занимает первое место среди злокачественных новообразований женского населения земного шара.

По данным белорусского канцер-регистра в 2019 году было зарегистрировано 4946 новых случаев РМЖ. Пятилетняя выживаемость

пациентов с впервые установленным диагнозом РМЖ в 2019 году не превышала в целом 80,2%. Причем общепризнанная тенденция снижения процента выживших сохраняется и для этой локализации. Женщины с I и II стадией заболевания более 5 лет живут в 96 и 85,1%, с III – 66,1%, с IV – 22,4%.

В большинстве западных стран в последние годы снизились показатели смертности от РМЖ, особенно в более молодых возрастных группах, благодаря улучшению лечения и раннему выявлению заболевания. Тем не менее РМЖ остается все еще ведущей причиной смерти среди всех причин онкологической смертности европейских женщин. Для Республики Беларусь характерна такая тенденция.

Как и при других злокачественных солидных опухолях, основной причиной смерти являются отдаленные метастазы. После проведенного радикального лечения по поводу РМЖ метастазирование наступает почти у половины пациентов в течение первых пяти лет, независимо от поражения регионарных лимфатических узлов, причем наиболее часто опухоли прогрессируют в первые два года после завершения лечения. К сожалению, метастатический РМЖ – это смертельная патология.

Логично, что все усилия в борьбе с данной патологией должны быть направлены раннюю диагностику и скрининг, на выявление метастазирования на доклинической стадии процесса.

Из онкогематологии в лечение солидных опухолей недавно пришло понятие «минимальная остаточная болезнь». Термин «минимальная остаточная болезнь», или сокращенно МОБ (MRD – minimal residual disease от англ.) определяется как присутствие опухолевых клеток в организме, которые не могут быть обнаружены на основе использования рутинных диагностических методов. Также в настоящее время широко используется термин «минимальный остаточный (резидуальный) рак», который подразумевает наличие у радикально пролеченных пациентов циркулирующих или диссеминированных опухолевых клеток.

Согласно литературным данным, даже современные технологии, обладающие высокой разрешающей способностью такие как МРТ, ПЭТ/КТ не позволяют уловить раннее распространение опухолевых клеток из первичной опухоли, что препятствует началу своевременного и потенциально эффективного лечения.

Несмотря на многочисленность и обширность знаний относительно метастатического каскада, детальные и частные механизмы последнего полностью не изучены.

В настоящее время особое внимание уделяется исследованиям, направленным на изучение злокачественных клеток, способных выходить из

первичной опухоли и выживать в периферической крови, таких как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), или в костном мозге – диссеминированные опухолевые клетки (ДОК). Важной составляющей настоящих исследований является изучение механизмов, с помощью которых реализуются эти процессы. Именно описанные выше ЦОК и ДОК предложено отнести к категории так называемой МОБ.

Как утверждал Бернард Фишер, РМЖ – это изначально диссеминированный опухолевый процесс, даже на доклинической стадии, который не может быть диагностирован традиционными методами обследования. Сегодня понятно уже, что ЦОК являются непосредственным субстратом отдаленных метастазов и определяют эту раннюю диссеминацию.

Учитывая тот факт, что ЦОК могут сохраняться после радикальной хирургической операции, актуальным является вопрос о дополнительной адьювантной системной противоопухолевой терапии, направленной на эрадикацию этих клеток. Согласно экспериментальным данным химио- и гормонотерапия не всегда достаточно эффективны в отношении уничтожении ЦОК, что обусловлено определенными биологическими характеристиками этих клеток.

Принципиально важным является изучение различных особенностей ЦОК с учетом их возможной гетерогенности, а следовательно, и чувствительности к терапии, разработка эффективных диагностических технологий, разработка методов терапевтического воздействия на эти клетки. Все это становится важным приоритетом современной онкологии.

Вышеизложенное явилось побудительным мотивом исследования и определяет актуальность диссертационной работы Шляхтунова Е.А., направленной на повышение эффективности лечения пациентов, страдающих нематастатическим раком молочной железы.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Новизна шести положений, выносимых на защиту в диссертации Шляхтунова Е.А. имеется и представлена следующим.

Согласно дизайну исследования одним из этапов работы была разработка диагностикума для идентификации ЦОК. Это задача была решена, результатом которой стала разработка новых тест-систем для обнаружения транскриптов генов *BIRC5*, *HER-2/neu* и *c-ABL* на основе ОТ–ПЦР в режиме реального времени, обладающих аналитической чувствительностью больше либо равно 5 копиям за пробег и аналитической специфичностью 100%. При

помощи данных тест-систем стало возможным определять экспрессию указанных генов в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках.

Установлено, что циркулирующие опухолевые клетки еще до начала специального лечения обладают значительной гетерогенностью, которая проявляется большим разнообразием транскрипционного фенотипа как в качественно, так и в количественной характеристике – ЦОК, экспрессирующие гены отвечающие за рост и пролиферацию, стволовые опухолевые клетки, клетки на разных этапах эпителиально-мезенхимального перехода.

Также впервые определено, что молекулярно-биологический подтип первичной опухоли не влияет на частоту наличия ЦОК, экспрессирующие ген *BIRC5* и ген *HER-2/neu*. При РМЖ ЦОК обнаруживаются в периферической крови на всех этапах лечения – до и после хирургического вмешательства, во время проведения адъювантного лечения, включающего лучевую терапию, химиотерапию и гормонотерапию. Метод определения ЦОК по экспрессии генов *BIRC5* и *HER-2/neu* можно использовать в оценке минимальной остаточной болезни.

Впервые установлено, что на фоне проводимой адъювантной химиотерапии, в том числе и таргетной, происходит изменение транскрипционного фенотипа ЦОК по экспрессии генов *BIRC5* и *HER-2/neu* в сторону преобладания *BIRC5* положительных клонов, а также изменение клонов с *HER-2/neu* отрицательных в *HER-2/neu* положительные. При этом следует отметить, что в случае экспрессии гена *BIRC5* отмечается значимое увеличение уровня нормализованной экспрессии.

Доказано, что адъювантная химиотерапия по схеме 4 курса доксорубицин/эпирубицин + циклофосфан с последующим проведением 4-х курсов паклитаксела статистически значимо ($p=0,006$) приводит к снижению частоты обнаружения циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующих гены *BIRC5* и *HER-2/neu*, т.е. может контролировать МОБ.

Доказана прогностическая и предиктивная значимость циркулирующих опухолевых клеток при РМЖ. При анализе скорректированной и безрецидивной выживаемости циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие гены *BIRC5* и *HER-2/neu*, обнаруживались статистически значимо чаще ($p=0,001$) при неблагоприятном исходе, тем самым являются независимым фактором риска возврата заболевания, наряду со стадией опухолевого процесса с поражением регионарных лимфатических узлов, высоким индексом пролиферативной активности.

Разработанный новый метод контроля эффективности адъювантной цитостатической химиотерапии пациентов, страдающих раком молочной

железы, на основе оценки экспрессии генов *BIRC5* и *HER-2/neu* в циркулирующих опухолевых клетках, а также новый метод адъювантной цитостатической химиотерапии (ранний переход с антрациклинсодержащих схем, при установлении факта их неэффективности после 2 курсов химиотерапии, на таксаны (4 курса лекарственного средства паклитаксел), с последующим переходом на гемцитабин), позволяют добиться максимальной эрадикации циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови.

Все это позволило статистически значимо увеличить скорректированную 5-летнюю выживаемость на 11,6% ($p=0,036$) до $90,3\pm 3,8\%$ (95% ДИ: 86,5–94,1), а безрецидивную выживаемость на 7,4% ($p=0,023$) до $88,0\pm 4,4\%$ (95% ДИ: 83,6–92,4) с высокой экономической эффективностью 11,82.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Дизайн исследования, объем выборки, использование лабораторных тестов, адекватная статистическая обработка полученных данных не позволяет подвергнуть сомнению достоверность полученных в диссертационной работе результатов, обоснованность вынесенных на защиту шести научных положений, представленных выводов и практических рекомендаций.

Исследование базируется на анализе данных, полученных в ходе исследования биологического материала и клинических данных 230 пациентов с первичным резектабельным раком молочной железы (162 женщины группы проспективного сплошного исследования и 68 – группы контролируемого исследования), а также 52 неонкологических пациентов группы контроля.

Три этапа исследования (разработка диагностикума для идентификации ЦОК; проспективное сплошное нерандомизированное исследование с целью изучения транскрипционного фенотипа ЦОК, их клинического и прогностического значения, а также изучения и оценки эффективности методов терапии РМЖ (хирургическая операция, ПХТ, ЛТ, ГТ) в отношении эрадикации ЦОК и контроля МОБ и проспективное контролируемое исследование по типу адаптивной рандомизации (псевдорандомизированное) исследование оптимизации адъювантной терапии РМЖ с учетом МОБ), применение современных инновационных методов молекулярно-генетической диагностики и попытка персонализации лечения пациентов, страдающих РМЖ с учетом минимальной остаточной болезни, позволили

получить объективные достоверные данные. Полученные данные обоснованы применением необходимых современных статистических методов обработки, включающих как описательную статистику (параметрическую так и непараметрическую), так и сложные методы обработки данных как кластерный анализ, а также многофакторный анализ по Коксу.

Сформулированные выводы, положения диссертации и рекомендации, сделанные на основании полученных данных, вполне обоснованы, аргументированы, являются грамотными, логичными и достоверными.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Работа выполнена в рамках темы БРФФИ «Молекулярно-генетическая диагностика минимальной остаточной болезни при раке молочной железы» (апрель 2015 – март 2017), № гос. регистрации 20151454, а также в рамках государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» задания 2.30 «Оценить экспрессию генов опухолевой прогрессии с целью выявления минимальной остаточной болезни при раке молочной железы» (январь 2016 – декабрь 2017), № гос. регистрации 20160541, реализованных на базе УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 22.04.2015 г. № 166 (пункт 4. Медицина, фармация, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний), и приоритетным направлениям научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденным Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 г. № 190 (медицина и фармация), а также приоритетным направлениям научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 г. № 156 (пункт 2. Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: диагностика, медицинская профилактика и лечение инфекционных, включая вирусной этиологии, и неинфекционных заболеваний, экспертиза качества медицинской помощи).

Научная значимость диссертационной работы заключается в получении нового знания об опухолевом процессе, заключающегося в установлении роли

циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующих гены *BIRC5* и *HER-2/neu*, что легло в основу стратегии в персонализации лечения рака молочной железы.

Научная значимость диссертационной работы определяется разработкой и клиническим обоснованием принципиально нового подхода к контролю эффективности противоопухолевой терапии на основе изучения циркулирующих опухолевых клеток, их транскрипционного фенотипа, на всех этапах специального лечения рака молочной железы, влияния химиотерапевтических агентов на их эрадикацию под воздействием различных, и оптимальным (более ранним) переходом на более эффективные схемы адъювантной терапии.

Научная значимость работы подтверждена полученными двумя патентами Республики Беларусь на изобретение.

Неоспоримое научно-практическое значение имеют результаты, полученные в ходе изучения транскрипционного фенотипа циркулирующих опухолевых клеток, и установления их гетерогенности, проявляющейся в экспрессии генов, отвечающих за активный клеточный рост, эпителиально-мезенхимальный переход, стволовость.

Автором доказана возможность подтверждения ранней диссеминации опухолевого процесса при неметастатическом раке молочной железы на момент постановки диагноза путем детекции циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующие ген *BIRC5* и ген *HER-2/neu*, как до начала специального противоопухолевого лечения, так и в процессе хирургического, а также адъювантного лечения. Данный факт позволяет применять определение экспрессии генов *BIRC5* и *HER-2/neu* как маркер ЦОК, а соответственно, как критерий минимальной остаточной болезни.

Впервые полученное автором диссертационного исследования знание, заключающиеся в изменении транскрипционного фенотипа циркулирующих клеток в сторону преобладания *BIRC5* положительных клонов, а также изменение клонов с *HER-2/neu* отрицательных в *HER-2/neu* положительные под воздействием проводимой адъювантной химиотерапии, в том числе и таргетной, является не менее значимым в научно-практическом аспекте. Этот факт позволяет рассматривать данные гены, а именно их экспрессию в ЦОК как дополнительные маркеры эффективности проводимой адъювантной лекарственной терапии. Впервые установлено, что адъювантная химиотерапия по схеме 4 курса доксорубицин+циклофосфан с последующим проведением 4-х курсов паклитаксела достоверно снижает частоту обнаружения таргетных циркулирующих опухолевых клеток.

С клинической точки зрения, принципиально важным является впервые доказанное прогностическое и предиктивное значение циркулирующих опухолевых клеток при первичном неметастатическом РМЖ. Так, наличие циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующих ген стволовой опухолевой клетки *ALDH1*, до начала специального лечения, а также стадия опухолевого процесса с поражением регионарных лимфатических узлов IIВ–IIIС (N+) и индексом пролиферативной активности опухоли Ki 67 >20% являются независимыми прогностическими факторами риска возврата заболевания, точно также как и сохранение циркулирующих опухолевых клеток после завершения специальной терапии.

Приобретают важную не только практическую, но и социальную значимость результаты исследований Шляхтунова Е.А., посвященные оптимизации адьювантной полихимиотерапии, заключающейся в раннем переходе с антрациклинсодержащих схем, при установлении факта их неэффективности путем оценки экспрессии генов *BIRC5*, *HER-2/neu* в циркулирующих опухолевых клетках, после 2 курсов химиотерапии, на таксаны, с последующим переходом на гемцитабин, позволяющей добиться максимальной (в исследовании 100%) эрадикации циркулирующих опухолевых клеток и осуществлять контроль над минимальной остаточной болезнью у пациентов страдающих РМЖ.

Практическую значимость работы также подтверждают впервые созданные автором диагностические тест-системы для определения экспрессии генов *BIRC5* сурвивин, *HER-2/neu*, *c-ABL* методом ОТ–ПЦР в режиме реального времени в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках, обладающие аналитической чувствительностью больше либо равно 5 копий в пробе, аналитической специфичностью — 100%, что подтверждено тремя регистрационными удостоверениями и тремя техническим условиями на производство тест-систем.

Практическая значимость работы заключается в использовании полученных результатов диссертационного исследования в деятельности учреждений здравоохранения с целью повышения эффективности диагностики и лечения пациенток, страдающих раком молочной железы. Практическая значимость работы подтверждена 2 утвержденными в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь инструкциями по применению и 14 актами внедрения.

Социальная значимость работы состоит в увеличении выживаемости и повышении качества жизни пролеченных пациенток. Применение разработанных автором методов позволяет значимо увеличить как

опухолеспецифическую скорректированную 5-летнюю выживаемость, так и безсобытийную на 11,6% и 7,4% соответственно.

Экономическая значимость работы состоит в увеличении числа радикально излеченных женщин трудоспособного возраста с сохранением работоспособности. Следует отметить, что экономическая значимость предлагаемой разработки составляет 11,82.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

Полученные в диссертационной работе результаты опубликованы в 47 научных работ. Из них две монографии объемом 23,4 авторского листа, 15 статей в научных журналах, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, и 7 зарубежных статей общим объемом 8,9 авторского листа. В сборниках научно-практических конференций опубликовано 19 статей, в том числе 11 англоязычных.

Утверждены и изданы 2 инструкции по применению. Получено 3 регистрационных удостоверения, а также 2 патента на изобретение.

Результаты работы широко обсуждены на международных и республиканских научных форумах.

Таким образом, выносимые на защиту положения и выводы диссертации достаточно апробированы и подтверждены публикациями.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Оформление диссертационной работы Шляхтунова Евгения Александровича «Минимальная остаточная болезнь при раке молочной железы – диагностика и лечение» полностью соответствует требованиям ВАК Республики Беларусь. Диссертация написана в традиционном стиле. Разделами научного труда являются: введение, общая характеристика работы, аналитический обзор литературы, восемь глав с описанием проведенных исследований и полученных результатов, заключение, выводы, библиографический список, включающий 432 источника литературы преимущественно англоязычных, список публикаций соискателя, приложений. Диссертация изложена на русском языке, обильно иллюстрирована таблицами и рисунком (95 и 57 соответственно). Полный объем диссертации составляет 304 страницы.

Во введении автор определяет круг вопросов, касающихся значения повышения эффективности лечения рака молочной железы, с учетом возможного метастазирования, с непосредственным акцентом на

циркулирующие опухолевые клетки, решение которых представляет в целом актуальную проблему для практического здравоохранения.

В аналитическом обзоре литературы приведены последние, преимущественно, зарубежные научные данные о значении циркулирующих опухолевых клетках при раке молочной железы. Данная глава разделена на подпункты в которых подробно раскрыты современные представления о характеристике циркулирующих опухолевых клеток с использованием различных методов исследования. Описаны различные модели метастазирования с участием изучаемых клеток как в живом человеческом организме, так и моделях опухолей на животных и культуре опухолевой ткани. Детально изложены потенциальные механизмы образования метастазов из циркулирующих опухолевых клеток с изучением предметастатической ниши и тропности клеток к определенным тканям. Важным разделом является обзор механизмов резистентности этих циркулирующих клеток к различным цитостатическим агентам, а также возможные пути преодоления последней. Изложены вопросы и проблемы связанные со сложностью обогащения, выделения и изоляции ЦОК. Также автор приводит информацию о способах и методах терапии такого состояния как МОБ. Проведенный автором мета-анализ опубликованной литературы, является несомненным украшением данной главы.

Во второй главе «Материалы и методы» изложены сведения о дизайне исследования, контингенте пациентов, клинические критерии включения и исключения пациенток в исследование, характеристике опухолевого процесса. Подробно описаны применяемые методы исследования ЦОК, используемые диагностические наборы и тест-системы, а также способы оценки экспрессии генов. Расписаны варианты лечения пациентов опытной и тестируемой подгрупп. Детально описаны методы и способы статистической обработки полученных данных.

Результаты, полученные в ходе выполнения работы, изложены в последующих главах диссертации.

Третья глава посвящена разработке тест-систем для идентификации ЦОК. Представлена дорожная карта создания тест-систем для оценки транскриптов генов *HER-2/neu*, *VIRC5*, *c-ABL*, включая подбор и дизайн праймеров, оптимизация протокола амплификации и интерпретации результатов. В этой же главе приводятся результаты клинической апробации работоспособности тест-систем при исследовании ткани первичной карциномы молочной железы, а также сравнительный анализ двух технологий обогащения, изоляции и выделения ЦОК с определением оптимального метода для дальнейшего использования в работе.

Четвертая глава посвящена детальному исследованию и анализу транскрипционного фенотипа ЦОК при первичном раке молочной железы на момент постановки диагноза, т.е. до начала специального лечения. Изучена частота экспрессии генов *BIRC5*, *HER-2/neu*, генов эпителиально-мезенхимального перехода *TWIST*, *PI3K*, *AKT2*, гена стволовости *ALDH1*, а также генов суперсемейства *ABC-транспортеров*. Корреляционный и кластерный анализы, выполненные и представленные в данной главе позволили выявить новые закономерности в экспрессии различных генов.

В пятой главе приводятся подробный разбор эффективности проводимой противоопухолевой терапии в отношении эрадикации циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующих гены *BIRC5* и *HER-2/neu* на хирургическом этапе лечения пациентов с учетом объема оперативного вмешательства.

В шестой главе повествуется о результатах системной адъювантной лекарственной терапии, лучевой терапии и гормонального лечения в отношении воздействия на ЦОК. Особое значение имеет этапность исследования. Результаты отражают исследование на МОБ с учетом схем противоопухолевой адъювантной цитостатической и таргетной терапии после каждого двух курсов, сроков и времени проведения лучевой терапии и гормональной терапии. В заключении данной главы приводится наиболее эффективная схема противоопухолевой терапии в отношении эрадикации ЦОК.

Седьмая глава представлена результатами оценки выживаемости процентов и прогрессирования заболевания с учетом наличия и сохранения ЦОК после терапии и их транскрипционного фенотипа. Благодаря проведенному многофакторному анализу по Коксу, удалось определить новые независимые прогностические факторы риска возврата болезни, такие как наличие в периферической крови ЦОК, экспрессирующих ген стволовости *ALDH1*, до начала специального лечения резектабельного РМЖ, а также сохранение ЦОК как таковых (МОБ). Кроме того на выживаемость оказывают уже известные факторы – стадия опухолевого процесса с вовлечением в процесс регионарных лимфатических узлов и высокий Ki 67.

Восьмая глава посвящена апробации разработанной методики ЦОК-ориентированной адъювантной терапии РМЖ с учетом МОБ. Было определено, что применение метода лечения МОБ, основанного на своевременном переходе с неэффективной схемы адъювантной ПХТ на таксаны (при этом не следует дожидаться завершения всех запланированных курсов), а также дополнительная монокимиотерапия гемцитабином (при необходимости) у пациентов промежуточного и высокого риска возврата

болезни позволяют добиться 100% эрадикации ЦОК, что позволило статистически значимо увеличить скорректированную и безрецидивную выживаемость.

В каждой главе обобщаются полученные данные с формулировкой выводов. Заключение диссертационной работы состоит из семи обоснованных выводов. Приложения подтверждают практическую значимость работы и представлены регистрационными удостоверениями, техническими условиями на производство тест-систем, актами клинических испытаний, копиями инструкций по применению и актами внедрения в лечебную деятельность учреждений здравоохранения республики и учебный процесс медицинских вузов.

Автореферат диссертации соответствует содержанию работы.

Работа написана грамотным научным языком. Принципиальных замечаний по работе не имеется.

В ходе анализа выполненной диссертационной работы возникли вопросы дискуссионного характера:

1. После радикальной мастэктомии по Маддену частота сохранения ЦОК была статистически значимо ниже, чем после радикальной резекции молочной железы, и составила 46,9% против 61,8% ($p=0,039$). С чем связаны такие различия?

2. С чем связано достоверное снижение уровня ЦОК (в 3,7 раза) при проведении лучевой терапии у пациентов I стадии?

3. Чем обусловлена смена режима химиотерапии проводимой по схемам АС, ЕС, САФ, СЕФ после 2 курсов при наличии циркулирующих опухолевых клеток на 4 курса паклитаксела?

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Анализ материалов, представленных Е.А. Шляхтуновым, их объем и качество, свидетельствует о том, что в своей отрасли и области знаний диссертант является специалистом высокой квалификации, умеет творчески переосмыслить литературные данные, провести анализ полученных результатов и способен вести грамотно и самостоятельно научную работу. Это позволило диссертанту обосновать тему научного исследования, сформулировать задачи и положения, выносимые на защиту, выполнить обработку полученных данных, сформулировать выводы и практические рекомендации. Содержание опубликованных работ не оставляет сомнений о

широком кругозоре и личном вкладе соискателя в науку. Стил ь изложения свидетельствует о грамотности и научной зрелости автора.

Таким образом, научная квалификация Шляхтунова Е.А. соответствует степени доктора медицинских наук, на которую он претендует, что подтверждается достаточным количеством научных публикаций по теме диссертации и докладов на научных форумах, внедрением в практическое здравоохранение, использованием современных методов исследования и анализа материала, высоким качеством проведенной работы.

Заключение

Диссертационная работа Е.А. Шляхтунова «Минимальная остаточная болезнь при раке молочной железы – диагностика и лечение», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология, является завершенным, самостоятельно выполненным научным исследованием, содержащим принципиально новые достоверные результаты, свидетельствующие о существенном вкладе их в решении научной проблемы, а именно: повышение эффективности лечения пациентов, страдающих раком молочной железы с учетом минимальной остаточной болезни.

Диссертационная работа соответствует пункту 20 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», а ее автор, Шляхтунов Евгений Александрович, заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология за:

– разработку оригинальных тест-систем отечественного производства для обнаружения транскриптов генов *BIRC5*, *HER-2/neu* и *c-ABL* на основе ОТ–ПЦР в режиме реального времени, которые позволяют идентифицировать циркулирующие опухолевые клетки в периферической крови пациентов, страдающих раком молочной железы, и обладающие аналитической чувствительностью больше либо равно 5 копий в пробе и аналитической специфичностью — 100%;

– установлением факта того, что при раке молочной железы I–III стадий у пациентов в периферической крови до начала специального лечения определяются циркулирующие опухолевые клетки, обладающие количественной и качественной вариабельностью транскрипционного фенотипа: в 48,4% случаев циркулирующие опухолевые клетки экспрессируют ген антиапоптотического протеина сурвивина *BIRC5*, в 67,2% случаев — ген рецептора эпидермального фактора роста *HER-2/neu*, в 74%

случаев экспортируют по меньшей мере один из маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, в 46,4% — маркер стволовой опухолевой клетки *ALDH1*, и в 86% экспрессируют как минимум один ген лекарственной устойчивости семейства *ABC-транспортеров*;

– доказательство того, что сохранение циркулирующих опухолевых клеток, экспрессирующих маркерные гены *BIRC5* и *HER-2/neu* (МОБ) после завершения противоопухолевого лечения, является неблагоприятным фактором риска возврата болезни и увеличивает риск рецидива в 3,6 раза (95% ДИ: 1,32–9,99);

– установление факта, что циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие гены *BIRC5* и *HER-2/neu*, являются критерием в оценке МОБ, т.к. могут обнаруживаются в периферической крови пациентов, страдающих раком молочной железы I–III стадии, с частотой 70,9% до начала специального противоопухолевого лечения, могут сохраняться во время проведения адъювантного лечения, включающего лучевую, химио- и гормонотерапию с частотой до 40,7%, не зависимо от молекулярно-биологического подтипа карциномы;

– установление новой закономерности в отношении изменения профиля экспрессируемых генов в циркулирующих опухолевых клетках в под влиянием химиотерапевтических агентов с преобладанием клонов с высоким уровнем экспрессии *BIRC5* (4,537, $p=0,01$), а также изменение клонов с *HER-2/neu* отрицательных в положительные с высоким уровнем экспрессии *HER-2/neu* (8,058, $p=0,011$, что можно использовать в качестве маркера развития химиорезистентности, для оценки ее эффективности, прогноза и улучшения показателей выживаемости;

– разработку и обоснование нового метода молекулярно-генетического мониторинга и оценки эффективности адъювантной системной терапии пациентов, страдающих раком молочной железы, на основе анализа экспрессии генов *BIRC5*, *HER-2/neu* в циркулирующих опухолевых клетках, дающего возможность потенциально установить неэффективность проводимого режима адъювантной терапии, по критерию эрадикации последних, схемами CAF (CEF) у 56,1%, AC (EC) — у 52,5%, AC–T у 16%, T–Траст у 25% и при гормонотерапии у 44,1% пациентов;

– доказательство эффективности последовательного назначения антрациклиновых схем с последующим назначением таксанов (4 курса доксорубин+циклофосфан с последующим проведением 4-х курсов паклитаксела) при адъювантной химиотерапии, которое приводит к значимому снижению частоты обнаружения мРНК *BIRC5* и мРНК *HER-2/neu*

положительных циркулирующих опухолевых клеток, тем самым позволяет осуществлять контроль над минимальной резидуальной болезнью;

– разработку, внедрение и экономическое обоснование нового режима адьювантной системной химиотерапии, позволяющего значимо достичь увеличение показателей 5-летней скорректированной выживаемости на 11,6% ($p=0,036$) до $90,3\pm 3,8\%$, а безрецидивной выживаемости на 7,4% ($p=0,023$) до $88,0\pm 4,4\%$, основанного на ранней смене антрациклинсодержащих схем, при установлении факта их неэффективности после 2 курсов химиотерапии, на таксаны и в последующем на гемцитабин при сохранении циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови, что позволяет добиться максимальной эрадикации последних.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, заведующий
лабораторией онкоабдоминальной
патологии Государственного учреждения
«Республиканский научно-практический
центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова»



А.И. Шмак

18.10.2022

