

УТВЕРЖДАЮ

Ректор учреждения образования
«Гомельский государственный
медицинский университет»,
д.м.н., профессор

И.О. Стома

« 25 »

2024 г.

ОТЗЫВ

ОППОНИРУЮЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» на диссертацию Орехвы Андрея Владимировича «Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология, отрасли – медицинские науки.

В соответствии с приказом ректора учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» от 16 октября 2024 №16-ас, на основании направления совета по защите диссертаций Д 03.12.01 при государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», руководствуясь п.п. 38, 44, 45 Положения о совете по защите диссертаций, п. 42 главы 5 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь № 560 от 17 ноября 2004 г. с изменениями и дополнениями, проведено научное собрание сотрудников кафедр онкологии, акушерства и гинекологии, хирургических болезней №2, хирургических болезней №3, анестезиологии и реаниматологии, военной кафедры, внутренних болезней №2, нормальной и патологической физиологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 25 октября 2024 года (протокол №16) по обсуждению кандидатской диссертации Орехвы Андрея Владимировича «Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих

опухолевых клеток при колоректальном раке».

На научном собрании заслушан доклад соискателя Орехвы Андрея Владимировича, содержащий основные результаты исследования, доклад эксперта к.м.н., доцента Михайлова Игоря Викторовича, проведено обсуждение диссертационной работы и подготовленного экспертом отзыва.

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Научный руководитель Шляхтунов Евгений Александрович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой онкологии с курсом ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

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

Диссертация А.В. Орехвы «Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке» соответствует отрасли науки – медицинские, специальности 14.01.12 – онкология (п. 6 паспорта специальности 14.01.12 - онкология, утвержденный приказом Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 23 апреля 2018 г. № 116 – исследования, связанные с клиническими вопросами проявления опухолевой болезни, диагностикой и лечением новообразований) и соответствует приоритетным направлениям научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 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).

Работа выполнена в рамках научной темы Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, реализованных на базе учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»: «Определение роли секретома, транскриптома и микровезикул тромбоцитов в пролиферации и метастазировании солидных злокачественных опухолей и разработка новых неинвазивных подходов к их диагностике и мониторингу эффективности противоопухолевой

терапии» (2022–2025 гг.), номер государственной регистрации 20230159 от 31 января 2023 г.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Орехвы А.В. «Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке» посвящена актуальной проблеме онкологии – диагностике минимальной остаточной болезни при колоректальном раке. Для решения проблемы выбраны современные подходы, подразумевающие исследование антиапоптотического молекулярно-генетического маркера в циркулирующих опухолевых клетках. Согласно базе данных Globocan МАИР в последние годы отмечается неуклонный рост заболеваемости и смертности от рака толстой кишки. В мире ежегодно регистрируется более 1 млн. новых случаев заболеваемости колоректальным раком, из которых более половины умирает в течение первого года. Мировая статистика свидетельствует, что в структуре онкологической заболеваемости колоректальный рак занимает второе место у женщин и третье место у мужчин. В Республике Беларусь по данным канцер-регистра с 2010 по 2019 год заболеваемость раком ободочной кишки увеличилась на 23 % (с 25,8 до 33,5 на 100 тыс. населения), а раком прямой кишки – на 13,5 % (с 21,3 до 24,6 на 100 тыс. населения). Пятилетняя выживаемость пациентов с впервые установленным диагнозом рака толстой кишки весьма гетерогенна и зависит от стадии заболевания (93 % при I стадии и 13 % при IV соответственно). При резектабельном неметастатическом колоректальном раке после проведенного радикального лечения метастазирование наступает почти у половины пациентов в течение первых пяти лет. В настоящее время метастатический рак толстой кишки неизлечим, а метастазы приводят к смерти большинства пациентов, страдающих раком.

В данном контексте на первый план выходит проблема возможного рецидива и, в свою очередь, подчеркивается важность минимальной остаточной болезни. Минимальная остаточная болезнь определяется как присутствие опухолевых клеток в организме, которые не могут быть обнаружены на основе использования сегодняшних рутинных диагностических методов, применяющихся для определения стадии опухолевого процесса у онкологических пациентов после хирургического удаления первичной опухоли.

В настоящее время представляет большой интерес область исследований, направленная на изучение характеристик клеток, которые способны выходить из первичной опухоли и выживать в периферической крови, таких как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), а также изучение механизмов, с помощью которых реализуются эти процессы. Следует обратить внимание, что именно описанные выше циркулирующие опухолевые клетки, которые сохраняются у радикально пролеченных пациентов, предложено отнести к категории так называемой минимальной остаточной болезни.

Хорошо известно, что метастатический процесс весьма сложен. К настоящему времени предложено множество гипотетических моделей, которые объясняют события метастатического каскада, базирующиеся на различных характеристиках злокачественных клеток первичной опухоли и метастатических очагов. Несмотря на обширность знаний относительно метастатического каскада, тонкие механизмы и детали полностью не выяснены. Согласно литературным данным, циркулирующие опухолевые клетки являются непосредственным субстратом отдаленных метастазов. Однако оценить метастатический потенциал ЦОК можно только после определения функциональных опухолевых маркеров. К одним из таких маркеров относится антиапоптотический ген *BIRC5*.

Разработка метода диагностики минимальной остаточной болезни с учетом циркулирующих опухолевых клеток является важным приоритетом современной онкологии. В этой связи работа А.В. Орехвы, в которой изучены молекулярно-генетические характеристики циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке, с учетом проявления минимальной остаточной болезни, ассоциируется с дальнейшим прогрессом в курации пациентов данной категории. Таким образом актуальность темы диссертационной работы Орехвы А.В. не вызывают сомнений, как с научной, так и практической точек зрения.

Научный вклад соискателя в решение научной проблемы с оценкой его значимости

Диссертация представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу, выполненную лично автором. Автором лично обоснована целесообразность проведения исследования, выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы, определены состояние проблемы и круг нерешенных вопросов. Совместно с научным руководителем сформулированы цели, задачи, объект и

предмет исследования. Соискателем проведен анализ медицинских карт амбулаторных и стационарных пациентов с формированием компьютерной базы данных и ее эксплуатация. Автор проводил отбор, обследование и лечение пациентов, вел динамическое наблюдение. Автор принимал непосредственное участие во всех хирургических операциях у пациентов с колоректальным раком и лично выполнил 80 % операций, а также и, осуществлял наблюдение за пациентами на этапе адъювантного лечения, а также диспансерное наблюдение с 2018 по 2023 г. Автор лично принимал участие в пробоподготовке биологического материала (периферическая кровь и опухолевый материал), а также выполнял ряд этапов ПЦР-исследования и интерпретацию полученных результатов экспрессии исследуемого гена в циркулирующих опухолевых клетках.

Методическое решение исследования, статистическая обработка результатов, интерпретация полученных данных с формулированием выносимых на защиту научных положений, заключения, содержащего выводы и практические рекомендации, также сделаны соискателем лично. Соискатель осуществил внедрение разработанных методик в практику.

Научная новизна результатов диссертационной работы и положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений.

Научная значимость работы состоит в том, что впервые изучена экспрессия мРНК (*BIRC5*) в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках при колоректальном раке и аденомах толстой кишки на этапах хирургического, химиотерапевтического лечения и диспансерного наблюдения. Получено новое знание, заключающееся в том, что *BIRC5*-положительные опухоли и ЦОК до хирургического лечения встречаются у большинства пациентов (85,3% и 76,2% соответственно). При этом на наличие *BIRC5*-положительных ЦОК у пациентов, страдающих колоректальным раком, влияет стадия заболевания (III–IV), метастатически пораженные регионарные л/у (N+) и *BIRC5*-положительный статус первичной опухоли толстой кишки. Данный факт позволяет обозначить новые звенья канцерогенеза и метастазирования при колоректальном раке.

Впервые определено, что циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие ген *BIRC5*, обнаруженные через 9 месяцев после хирургического лечения пациентов, страдающих колоректальным раком, являются независимым прогностическим фактором риска возврата заболевания, что позволяет рассматривать циркулирующие опухолевые клетки как прогностический и предиктивный маркер с

целью коррекции адъювантной терапии и улучшения показателей выживаемости.

Автором впервые определены прогностические факторы у пациентов с учетом наличия *BIRC5*-положительных ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения и гиперэкспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК. Данный факт позволяет рассматривать циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие данный ген, после завершения противоопухолевого лечения как маркер минимальной остаточной болезни.

Научная и практическая значимость работы состоит в том, что впервые апробирована и внедрена в практическое здравоохранение инструкция по применению, разработанная на основе полученных результатов диссертационного исследования, что поможет выявить пациентов с минимальной остаточной болезнью.

Результаты научно-исследовательской работы и основные положения диссертации доложены на международных и республиканских съездах, симпозиумах, конференциях и внедрены в практическое здравоохранение, что подтверждено актами о практическом использовании.

Таким образом, решение поставленной научной задачи имеет прикладной характер.

Конкретные научные результаты, их новизна и практическая значимость, за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень кандидата медицинских наук

В диссертационной работе А.В. Орехвы получены новые, научно обоснованные результаты, за которые может быть присуждена ученая степень кандидата медицинских наук, включающие:

- установление факта того, что *BIRC5*-положительные карциномы толстой кишки встречается у большинства пациентов (85,3 %), при аденомах – у 47,6 %, а наличие маркерного гена в опухоли напрямую зависит от ее размера, как при карциноме, так и при аденоме ($p=0,04$ и $p=0,035$ соответственно);

- получение новых данных о ЦОК на этапе хирургического лечения, заключающихся в том, что ЦОК, экспрессирующие ген *BIRC5* в 76,2 % случаев обнаруживаются в периферической крови пациентов, страдающих колоректальным раком I–IV стадий, а на уровень экспрессии маркерного гена напрямую влияют пораженные регионарные л/у ($p=0,002$; $r=0,27$), отдаленные метастазы ($p=0,005$;

$r=0,26$), стадия опухолевого процесса (III–IV) ($p=0,004$; $r=0,27$), низкая степень дифференцировки опухоли ($p=0,001$; $r=0,29$), наличие муцинозного компонента в опухоли ($p=0,02$; $r=0,21$);

– разработку модели прогноза возврата болезни: установлены неблагоприятные факторы риска развития прогрессирования и возврата болезни – отдаленные метастазы – $OR=6,5$ ($p=0,001$), метастатические регионарные л/у – $OR=2,6$ ($p=0,005$) и уровень мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. через 9 месяцев после хирургического лечения – $OR=5,7$ ($p<0,001$), при этом у пациентов, страдающих колоректальным раком, имеющих III и IV стадии, условная вероятность возврата заболевания в 14,8 и 37,1 раза выше, чем у пациентов, у которых эти факторы отсутствуют;

– разработку, обоснование и внедрение метода определения минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих раком толстой кишки, на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения ($AUC=0,875$, $p<0,0001$), который наряду с исследованием онкомаркеров РЭА ($AUC=0,748$; $p<0,001$) и СА 19-9 ($AUC=0,701$; $p=0,002$) может использоваться в диагностике МОБ при колоректальном раке.

Результаты, полученные в диссертационной работе, имеют большое практическое значение для клинической онкологии и молекулярной биологии.

По теме диссертационного исследования опубликовано 14 научных работ. Из них 6 статей в научных журналах, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, общим объемом 5,5 авторского листа. В сборниках научно-практических конференций опубликовано 7 статей.

Для практического применения издана инструкция по применению, утвержденная Минздравом Республики Беларусь:

Метод определения минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих колоректальным раком, на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках: инструкция по применению №132-1223 от 26.03.2024.

За все перечисленное соискателю может быть присуждена искомая ученая степень кандидата медицинских наук.

Объем исследований, проведенный соискателем, в полной мере соответствует поставленным целям и задачам работы и соответствует всем требованиям, предъявляемым к медико-биологическим исследованиям. Диссертантом проведено сплошное проспективное нерандомизированное исследование, в которое было включено 130

пациентов с опухолями толстой кишки (группа исследования – 109 пациентов с первичным колоректальным раком и группа наблюдения – 21 пациент с аденомами толстой кишки). Мониторинг уровня экспрессии в ЦОК составил 9 месяцев после хирургического лечения. Пациенты в исследование были включены по соответствующим критериям и получали специальное противоопухолевое лечение (хирургическая операция, адъювантная лучевая, химиотерапия) в УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер» с 2018 по 2023 год. Основными оцениваемыми результатами определены показатели опухолеспецифической 5-летней скорректированной и 5-летней безрецидивной выживаемости. Предметом исследования послужили периферическая кровь и находящиеся в ней циркулирующие опухолевые клетки, а также опухолевая ткань пациентов, страдающих опухолями толстой кишки. Основу работы составило изучение клинической значимости циркулирующих опухолевых клеток и их молекулярных-генетических сигнатур.

Выбор статистических методов обоснован поставленными в исследовании задачами, проведен на высоком методическом уровне в соответствии с современными требованиями к применению статистических методов в медицинских исследованиях.

Положения, выносимые на защиту, изложены ясно и корректно; содержат отличительные признаки и краткое описание сущности новых результатов и характеризуют вклад соискателя в науку.

С точки зрения методического подхода к организации исследования и использования современных методов диагностики достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Результаты и разработанные практические рекомендации отражены в положениях, выносимых на защиту, и в обоснованных выводах. Выводы логично вытекают из результатов исследования, соответствуют сформулированным цели и задачам, основным научным положениям, выносимым на защиту, и основываются на достаточном клиническом и инструментально-лабораторном материале.

Замечания по диссертации

В процессе анализа диссертации А.В. Орехвы существенных замечаний, влияющих на научно-практическую значимость работы и ее общую положительную оценку, не возникло.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Научная квалификация Орехвы Андрея Владимировича соответствует требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата наук по специальности 14.01.12 - онкология, так как:

- выполненная работа по объему, новизне и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям ВАК Республики Беларуси, предъявляемым к кандидатским диссертациям;
- является завершенным самостоятельно выполненным научным трудом с применением адекватных поставленным задачам современных методов исследования и математической статистики;
- основные положения работы имеют достаточный уровень апробации и опубликованы в открытой печати; представлены на отечественных и международных конференциях;
- доклад диссертанта, его квалифицированные ответы на поставленные вопросы свидетельствуют о научной зрелости, умении формулировать и обосновывать обсуждаемые научные факты и положения.

Качество выполненных научных исследований, уровень теоретической подготовки, личный вклад, владение современными инструментальными и лабораторными методами исследований, способность интерпретировать полученные данные, подтверждают соответствие Орехвы А.В. ученой степени кандидата медицинских наук.

Рекомендации по использованию результатов, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение. Разработанные методы внедрены в работу УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр», УЗ «Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи», УЗ «Брестская областная клиническая больница». Материалы

диссертационной работы включены в лекционный курс учебной программы кафедры онкологии с курсом ФПК и ПК и кафедры доказательной медицины и клинической диагностики ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Полученные автором результаты и сформулированные на их основе выводы формируют новые подходы в диагностике минимальной остаточной болезни на основании оценки циркулирующих опухолевых клеток и его молекулярно-генетического маркера (*BIRC5*), обладающего прогностическим значением и целесообразны к использованию у пациентов, страдающих раком толстой кишки, в масштабах всей Республики Беларусь.

Заключение

Диссертационная работа Андрея Владимировича Орехвы «Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке» является квалификационным, законченным, самостоятельным научным исследованием, научно-обоснованные результаты которого обеспечивают решение важной научной и клинической проблемы – ранней диагностики прогрессирования опухолевого процесса у пациентов, страдающих раком толстой кишки, путем разработки метода определения минимальной остаточной болезни.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной и практической значимости соответствует установленным требованиям ВАК Республики Беларусь, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология, за новые, научно обоснованные результаты в области диагностики и прогнозирования у пациентов, страдающих колоректальным раком.

Доклад А.В. Орехвы и проект отзыва оппонировавшей организации, подготовленный экспертом, заслушаны и обсуждены в соответствии с приказом ректора университета №16-ас от 16.10.2024 г. на научном собрании УО «Гомельский государственный медицинский университет» 25 октября 2024 г.

В голосовании приняли участие 13 человек, из них 1 доктор медицинских наук, 1 доктор биологических наук и 11 кандидатов медицинских наук.

Итоги голосования: «за» - 13 человек, «против» - нет,

«воздержались» - нет. Постановление принято единогласно.

Отзыв принят единогласно открытым голосованием членами заседания, имеющими ученые степени (из них докторов медицинских наук – 1, докторов биологических наук –1, кандидатов медицинских наук –11).

Председатель

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры онкологии



В.Н. Беляковский

Эксперт

кандидат медицинских наук, доцент,
заведующий кафедрой онкологии



И.В. Михайлов

Секретарь

кандидат медицинских наук,
доцент кафедры онкологии



В.В. Татчихин

Подписи В.Н. Беляковского, И.В. Михайлова, В.В. Татчихина заверяю

Ведущий специалист



А.А. Дзед
кадрау

В.В. Татчихин