

**ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**  
**на диссертационную работу Денисова Евгения Владимировича на тему**  
**«Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы.**  
**Клинические и молекулярно-генетические особенности»,**  
**представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук по**  
**специальности: 3.1.6 – онкология, лучевая терапия**

**Актуальность исследования.** Рак молочной железы (РМЖ) является чаще всего диагностируемым раком у женщин во всем мире. В Российской Федерации в 2020 году заболело РМЖ более 64 тыс. женщин, из них 21 тыс. случаев со смертельным исходом. Несмотря на улучшение показателей общей выживаемости больных РМЖ за счет раннего выявления и адекватного лечения, это заболевание остается основной причиной смерти от рака среди женского населения. Основными причинами смертности от РМЖ является возникновение резистентности к терапии и развитие метастазов.

РМЖ – гетерогенное заболевание, патогенез которого обусловлен комплексным взаимодействием экзогенных и эндогенных факторов. Выделяют более 20 гистологических типов данного заболевания, из которых наиболее распространённым является инвазивная карцинома неспецифического типа. Инвазивный компонент данного варианта РМЖ чрезвычайно разнообразен, что не даёт возможности его отнесения к более специфическим гистологическим типам. Среди инвазивной карциномы неспецифического типа выделяют 5 основных молекулярных подтипов, характеризующихся специфическим рецепторным статусом и прогнозом и требующих назначения индивидуальной терапии. Такая высокая гетерогенность инвазивной карциномы молочной железы во многом предопределяет клиническое течение заболевания, ответ на лечение и вероятность рецидивирования и метастазирования.

Несмотря на интенсивные исследования феномена гетерогенности РМЖ, до сих пор нет единого понимания о механизмах её формирования и возможностях её использования в диагностической и клинической практике. Если в области изучения гетерогенности РМЖ на генетическом уровне сделан большой прогресс, то внутриопухолевое морфологическое разнообразие, затрудняющее гистологическую классификацию и, соответственно, прогнозирование данного заболевания, остаётся практически неисследованным. В работе автор исследует причины формирования внутриопухолевой морфологической гетерогенности инвазивной карциномы молочной железы и её вклад в риск прогрессирования и эффективность химиотерапии заболевания. Таким образом, актуальность данной работы для фундаментальной и клинической онкологии не вызывает сомнений.

**Научная новизна** диссертационного исследования обусловлена всесторонним изучением природы внутриопухолевой морфологической гетерогенности инвазивной карциномы молочной железы, выявлением факторов её вклада в прогрессирование и результативность химиотерапии. Впервые на большом клиническом материале доказан вклад морфологической гетерогенности в гематогенное метастазирование и безметастатическую выживаемость, зависящий от эффективности неоадьювантной химиотерапии. Изучена ассоциация каждого из морфологических типов с наличием хромосомных aberrаций, опухолевых стволовых клеток, экспрессией генов эпителиально-мезенхимального перехода и химиорезистентности. Проведено типирование микроокружения различных морфологических структур на присутствие популяций макрофагов M1 и M2 типа и фибробластов разной степени активации. Идентифицирован новый тип морфологических структур, получивших название “торпедоподобные” структуры. Обнаружено, что экспрессия белков KIF14, MIEAP и EZR на концах данных структур ассоциирована с частотой развития гематогенных метастазов РМЖ и безметастатической выживаемостью. Определен транскрипционный профиль опухолевых клеток, экспрессирующих данные белки.

**Научно-практическая значимость.** Результаты диссертационного исследования имеют несомненную научную и практическую ценность. Данные о клеточных и молекулярно-генетических особенностях морфологически-обособленных структур РМЖ проливают свет на механизмы формирования гетерогенности инвазивного компонента опухолевой ткани. Информация о транскрипционном профиле различных морфологических структур в плане их эпителиальных и мезенхимальных характеристик и экспрессии широкого круга генов, связанных с поступлением, метаболизмом и выбросом препаратов из клеток, позволяет понять фундаментальные основы прогрессирования РМЖ и развития устойчивости к химиотерапии. Результаты о распределении опухолевых стволовых клеток в морфологических структурах и их эпителиально-мезенхимальных особенностях предоставляют основу для обсуждения потенциальных причин опухолевой пластичности. Предложенные практические рекомендации позволяют предсказывать риск гематогенного метастазирования РМЖ на основе анализа альвеолярных и трабекулярных структур и экспрессии белков KIF14, MIEAP и EZR в торпедоподобных структурах ткани опухоли.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность полученных результатов обусловлена большим количеством изученных случаев РМЖ. В работе были проанализированы морфологические характеристики опухолей 700 пациенток с РМЖ. С помощью высокоточного метода лазерной микродиссекции получены образцы каждого

типа морфологических структур и проведён их гистологический и транскрипционный анализ с использованием корректных и высокоинформативных методов. С помощью мультиплексного иммунофлуоресцентного окрашивания и конфокальной микроскопии определены пространственная организация различных морфологических структур, количество и расположение в них опухолевых стволовых клеток и состав их микроокружения. Достоверность результатов определяется использованием биологических и технических повторов. Полученные результаты корректно обработаны биоинформатическими и статистическими методами. Первичные данные размещены в международной базе данных GEO.

По теме диссертации опубликовано 63 научные работы, из них 18 статей в рецензируемых научных изданиях, одобренных ВАК. По результатам диссертационного исследования получено 2 патента на изобретения для предсказания вероятности гематогенного метастазирования РМЖ на основе учета внутриопухолевой морфологической гетерогенности, а также 1 свидетельство о регистрации базы данных молекулярно-морфологических характеристик опухоли и клинических параметров у пациентов с раком молочной железы, вошедших в исследование.

**Структура и содержание работы.** Диссертация включает введение, главу с обзором литературных данных, главу, посвященную материалам и методам исследования, главу результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы разработки данной темы и список литературы. Диссертация изложена на 256 страницах машинописного текста, включает 26 таблиц и 41 рисунок. Содержание введения традиционно, включает актуальность исследования, цель и задачи. Все поставленные задачи соответствуют цели диссертации. Раскрыты научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Подробно изложено личное участие автора в проведении диссертационного исследования. Четко сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Обзор литературы сделан на 40 страницах, что достаточно для детального освещения изучаемой проблемы. Представлена информация о феномене внутриопухолевой гетерогенности в целом и внутриопухолевой морфологической гетерогенности РМЖ в частности. Указаны основные гипотезы формирования внутриопухолевой гетерогенности, на основе которых сформулированы задачи диссертационного исследования, и освещена её роль в прогрессировании и эффективности терапии злокачественных новообразований, в т.ч. РМЖ. Приведенные публикации в большинстве своём датированы последними годами. Список литературы состоит из 358 источников, из них 336 зарубежных авторов и только 22 отечественные работы, что подтверждает актуальность и малую освещенность в отечественной литературе данной проблематики.

Во второй главе приводится подробное описание материалов и методов исследования. Подробно описана исследуемая группа пациенток с РМЖ и их стратификация на подгруппы в зависимости от задач и используемых методов. Приведен детальный дизайн исследования. В работе использован широкий набор современных методов гистологического и молекулярно-генетического анализа, адекватных поставленным задачам. Подробно описаны методы биоинформатического и статистического анализа, примененные на каждом этапе работы.

В третьей главе изложены результаты моделирования пространственного строения различных морфологических структур и приведены данные их цитогенетического профиля. В данной главе подробно проводится анализ транскрипционного профиля морфологических структур в плане выраженности дифференциально-экспрессирующихся генов, сигнальных путей, биологических процессов и маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и химиорезистентности. Приведены данные о распределении опухолевых стволовых клеток в морфологических структурах и составе их микроокружения. На основе детального ассоциативного исследования приведена информация о связи морфологической гетерогенности с лимфогенным и гематогенным метастазированием и эффективностью неоадьювантной химиотерапии. Посредством глубокого анализа транскрипционного профиля морфологических структур и сопоставления полученных данных с другими исследованиями и профильными базами данных выделены гены, экспрессия которых на белковом уровне ассоциирована с гематогенным метастазированием и безметастатической выживаемостью. Предложена модель формирования и эволюции внутриопухолевой морфологической гетерогенности РМЖ и её вклада в прогрессирование и эффективность химиотерапии заболевания с учётом обнаруженных клеточных и молекулярно-генетических особенностей.

В заключении подводятся итоги исследования, обобщаются полученные результаты и проводится их анализ в сопоставлении с литературными данными. Выводы полностью отражают полученные результаты, соответствуют цели и задачам исследования. Практические рекомендации, сформулированные по результатам исследования, указывают на возможность внедрения в клиническую практику. Автореферат содержит основные результаты исследований, полностью отражает содержание работы.

**Замечания.** Критических замечаний и ошибок при рецензии данной работы выявлено не было.

**Заключение.** Полученные в ходе диссертационного исследования результаты имеют большое научное и практическое значение. Имеется решение актуальной научной проблемы, а именно поиск причин формирования клинически значимого феномена,

внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы, и определение прогностических признаков на основе детального гистологического анализа ткани опухоли и молекулярного профилирования различных морфологических структур. На этом основании 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 завершённым научным трудом и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в ред. от 21.04.2016 г. № 335 и 02.08.2016 г. № 748, 01.10.2018 № 1168, в ред. от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора биологических наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия.

**Официальный оппонент:** Заведующий лабораторией канцерогенных веществ НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук

  
Кирсанов Кирилл Игоревич

10 / 10 / 2022 г.

Подпись Кирсанова К.И. заверяю

Учёный секретарь

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
кандидат медицинских наук

  
Кубасова Ирина Юрьевна

Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе 23

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сайт: <https://www.ronc.ru/>

Тел.: 8 (495) 628-44-53

Email: [info@ronc.ru](mailto:info@ronc.ru)