

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Геворкяна Юрия Артушевича на диссертационную работу Семьянихиной Александры Владимировны «Молекулярно-генетическая диагностика при наследственном и sporadическом колоректальном раке», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 — Онкология, 03.02.07 – Генетика.

Актуальность темы

Рак толстой кишки, несмотря на значительные достижения в диагностике и лечении за последние десятилетия, остается одним из ведущих онкологических заболеваний, занимая второе место в структуре смертности от злокачественных новообразований в мире. Неуклонная отрицательная динамика роста заболеваемости среди молодых пациентов, высокая частота манифестации колоректального рака на этапе метастатического поражения, требующего комплексного и продолжительного лечения, определяют социальную и экономическую значимость всестороннего изучения проблемы злокачественной патологии толстой кишки. В связи с чем, актуальность диссертационной работы не вызывает сомнений. Персонализированная медицина, центральным постулатом которой является персонификация диагностических, терапевтических и профилактических подходов, базируется на изучении молекулярного профиля опухоли и генотипических особенностей пациента, что и является основным предметом данного исследования. Несомненным на сегодняшний день остается тот факт, что только междисциплинарный подход позволяет достигать наилучших показателей как выживаемости, так и качества жизни у больных, особенно в группах диссеминированного рака толстой кишки и пациентов с орфанной патологией, где индивидуальный генотип определяет не только специфичность лечения, но и риски развития вторых первичных опухолей, а медико-генетическое консультирование выступает на первый план для определения прогноза здоровья родственников, планирования семьи и деторождения. Интеграция научных знаний

с клиническим опытом и практическим применением научно-исследовательских данных является безусловным актуальным аспектом представленной диссертационной работы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

В ходе выполнения работы автором получены результаты, сформулированы выводы и даны практические рекомендации, являющиеся научно-обоснованными положениями, достоверность и новизна которых достигается за счет корректно поставленной цели и задач исследования, соответствия сформированной выборки больных и коллекции биологического материала, применения современных молекулярно-биологических методик для проведения ДНК-диагностики, использования современных математических и статистических подходов для выполнения аналитической части диссертации.

Выбор генетических маркеров для исследования обусловлен подробным анализом данных отечественных и зарубежных научных работ и носит прикладной характер. Так, изучение статуса генов *RAS/BRAF*, а также статуса MSI в группе больных диссеминированным раком толстой кишки не только определило прогностическое значение данных молекулярных предикторов, но и является регламентированным стандартом при назначении таргетной терапии. Автором не только изучены частотные различия и основанные на генотипе фенотипические различия опухолей толстой кишки, но подробно и комплексно представлен патогенетический анализ выявленных нарушений и закономерности генотипических отличий колоректального рака различной локализации. Достоверность результатов и прогностический вклад не только молекулярных, но и клинических маркеров достигнуты выполнением многофакторного анализа, что наглядно демонстрирует значимость отдельного предиктора. Если для лекарственной таргетной противоопухолевой терапии выполнение *RAS/BRAF*-тестирования – обязательное диагностическое исследование, то изучение патологической *RAS*-активации и других генетических нарушений в качестве

потенциального маркера для определения тактики комплексного лечения с включением хирургического этапа у больных диссеминированным раком толстой кишки является предметом изучения. Автором впервые в России представлены результаты по оценке влияния *KRAS/BRAF*-генотипа, продемонстрировавшие достоверно лучшие показатели выживаемости без прогрессирования у больных с хирургическим вмешательством в объеме полной циторедукции и отсутствием активирующих *RAS/BRAF*-мутаций.

В группе больных наследственным раком толстой кишки пациенты закономерно стратифицированы в две исследовательские группы: полипозного и неполипозного вариантов колоректального рака, что, как отмечено и самим автором является на сегодняшний день условным делением. В обеих группах выполнено ДНК-генотипирование с применением в т.ч. современных методик, таких как секвенирование нового поколения. Автором впервые в России оценена точность клинических критериев и показана диагностическая значимость MSI-тестирования при скрининге синдрома Линча. Подробный анализ клинико-анамнестических данных с последующим фено-генотипическим сравнением позволил сделать закономерные выводы о различиях в клиническом течении, прогнозе и последующем наблюдении больных с синдромом Линча в зависимости от патологического генотипа. Валидация метода высокопроизводительного секвенирования стандартными методиками и представленная эффективность разработанной таргетной панели подтверждают высокую диагностическую значимость NGS-метода, особенно у больных с фенотипическим перекрестом и невозможностью однозначной постановки генетического диагноза на первом этапе.

Научная и практическая значимость диссертационной работы Семьянихиной Александры Владимировны заключается, в первую очередь, в комплексности представленного исследования, в котором наряду с фундаментальными научно-аргументированными выводами представлены клинически обоснованные рекомендации. Непосредственные результаты молекулярно-генетической диагностики, несмотря на облигатные выбранные

молекулярные маркеры для тестирования, как в группе спорадического, так и наследственного рака, представлены не изолированно, а закономерно, с учетом других молекулярных нарушений и интегрированы с анамнестическими, клинико-морфологическими данными. Так, самым прогностически неблагоприятным молекулярным подтипом генерализованного рака толстой кишки выступил *BRAF*-ассоциированный колоректальный рак со стабильной системой репарации неправильно спаренных оснований ДНК. Выступив независимыми прогностическими факторами, и *RAS/BRAF*-статус, и хирургическое лечение в объеме полной циторедукции, продемонстрировали наилучшие показатели выживаемости без прогрессирования в группе больных с «диким типом» *RAS*-мутаций и возможностью «условно» радикального оперативного вмешательства. Представленные результаты по влиянию молекулярных маркеров на течение заболевания у больных в тоже время выступают предикторами эффективности таргетной и иммунотерапии, что имеет важное прикладное значение.

Несмотря на редкость орфанной онкологической наследственной патологии толстой кишки, автору удалось представить комплексный гено-фенотипический анализ больных с синдромом Линча с учетом важных диагностических опухолевых маркеров в том числе. Основанные на данных результатах практические рекомендации направлены на повышение качества оказания медико-генетической помощи больным и их родственникам.

Содержание диссертации

Диссертационная работа представлена на 232 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов исследования), заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы, который включает 303 источника, в т.ч. 5 отечественных и 298 зарубежных. Текст диссертации иллюстрирован 60 таблицами и 53 рисунками.

Во введении автором представлена актуальность исследования, сформулированы цель и задачи исследования.

В главе «Обзор литературы» автором подробно освещен вопрос текущего состояния изучения проблемы молекулярной природы колоректального рака, профилирования опухолевого генома и основанной на его данных молекулярной классификации с прикладным клиническим значением диагностируемых нарушений. В подглаве, посвященной наследственным формам рака толстой кишки, автором подробно представлена информация о синдромальной патологии колоректального рака с акцентом на синдром Линча и семейный аденоматозный полипоз, как самых частых наследственных вариантов, а также описаны возможности современных методик молекулярно-генетического тестирования. Представленный анализ, в подавляющем большинстве случаев опирается на данные зарубежных авторов, что указывает на недостаточную освещенность данной проблемы отечественными исследователями, особенно, что касается наследственного колоректального рака.

В «Материалах и методах исследования» детально описаны исследовательские группы. Всего в исследование включены 365 пациентов. В первую группу включены 140 больных генерализованным РТК для изучения соматического профиля опухоли (поиск соматических мутаций в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* и оценка статуса микросателлитной нестабильности в образцах опухолевой ткани). Вторая группа объединила 143 пациента с формально-генетическим диагнозом наследственного рака толстой кишки в составе синдрома Линча или семейного аденоматозного полипоза, в которой выполнялось ДНК-генотипирование на предмет наличия герминальных мутаций в генах *MLH1*, *MSH2* и *APC*. Также сформирована контрольная группа больных спорадического колоректального рака.

В материалах исследования подробно описаны молекулярные методики исследования, соответствующие регламенту проведения данных испытаний, все выявленные генотипические изменения, в т.ч. с применением NGS, верифицированы с применением секвенирования по Сэнгеру.

Для получения достоверных результатов исследования в аналитической части работы применялись методы статистической обработки с использованием

компьютерных программ Excel и IBM SPSS Statistics. Выживаемость без прогрессирования в группе sporadического рака толстой кишки, общая выживаемость и опухоль-специфическая выживаемость в группе наследственного рака определены первичными конечными точками. Для определения независимого влияния предикторов на исход заболевания в группе генерализованного рака толстой кишки выполнен многофакторный анализ. Для больных синдромом Линча также оценена диагностическая точность клинических критериев отбора для MMR-генотипирования.

В главе «Результаты собственного исследования» автором подробно представлены результаты ДНК-тестирования в обеих группах. Выполнен сравнительный анализ клинико-морфологических характеристик колоректального рака в зависимости от генотипа. После выполнения одно- и многофакторного анализа получены результаты, определившие независимых предикторов прогрессирования заболевания у больных. Так, независимыми факторами прогноза, определяющими достоверно худшую выживаемость без прогрессирования, выступили патологический *KRAS*- и *BRAF*-генотипы, а также высокий уровень микросателлитной нестабильности, среди клинических факторов хирургическое лечение в объеме полной циторедукции статистически значимо определило более благоприятный исход, при этом максимальный положительный эффект достигнут у пациентов с отсутствием активирующих соматических мутаций в генах *RAS/BRAF*.

В группе больных наследственными формами на основании данных генотипирования выполнен фено-генотипический сравнительный анализ, представлены клинико-морфологические характеристики больных синдромом Линча и полипозным колоректальным раком. Подробно изученные анамнестические данные позволили оценить точность клинических критериев отбора больных для генотипирования при синдроме Линча. Фенотипическая гетерогенность определила разницу в клинических подходах при наблюдении больных синдромом Линча. Впервые в России оценена выживаемость больных синдромом Линча в зависимости от генотипа, при этом показано, что *MLH1*-

ассоциированный рак толстой кишки характеризуется более худшим прогнозом заболевания.

Отдельной подглавой представлены результаты ДНК-тестирования с применением метода высокопроизводительного секвенирования на основе разработанной таргетной панели генов. Показана высокая информативность и точность данной методики, а также ее эффективность, особенно в сложных диагностических случаях.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автором проведено подробное сравнение собственных результатов с данными международных и отечественных исследований. Аргументирован каждый этап выполнения диссертационной работы, выбор молекулярных маркеров и методов исследования, клинических параметров, статистического анализа.

В заключении автором обобщены результаты исследования, информативно представлена аннотация диссертационной работы.

В «Выводах» диссертации, следующих из полученных результатов, автором сформулированы основные научные положения работы, соответствующие выполненной цели и задачам исследования. В завершении диссертации даны практические рекомендации, заключающие в себе прикладное значение работы и постулирующие значимость формирования прогностических групп и модификации лечения и наблюдения в зависимости от молекулярного подтипа как в группе спорадического, так и наследственного колоректального рака.

Основные положения работы представлены на II и III Всероссийских конференциях по молекулярной онкологии, на I Международном конгрессе «Редкие опухоли» и 53-й международной конференции Human Genetics ESHG в Гётеборге (Швеция). По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ в научных изданиях, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки России.

Автореферат по сути и содержанию полностью соответствует диссертационной работе, информативно иллюстрирован.

Заключение

Диссертационная работа Семьянихиной А.В. «Молекулярно-генетическая диагностика при наследственном и спорадическом колоректальном раке», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, решающей важные и актуальные задачи клинической генетики и онкологии.

Диссертация соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 — Онкология и 03.02.07 – Генетика.

Заведующий отделением абдоминальной онкологии №2
ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
профессор, доктор медицинских наук
(14.01.12 - Онкология)



Ю.А. Геворкян

Подпись проф., д.м.н. Геворкяна Ю.А. заверяю.

23.04.2020

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии»,
доктор биологических наук, доцент




Е.А. Дженкова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации
344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-линия, 63;
тел.: 8(863)3000-200, доб. 422;
e-mail: rnioi@list.ru