

ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего лаборатории онковирусологии научно-исследовательского института онкологии филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр российской академии наук», доктора биологических наук, профессора РАН Литвякова Николая Васильевича на диссертационную работу Данишевич Анастасии Михайловны «Изучение фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия, 1.5.7. Генетика.

Актуальность

Рак желудка (РЖ) ежегодно занимает лидирующую позицию в структуре онкологической заболеваемости, оставаясь ведущей причиной смертности больных от рака. РЖ является клинически и генетически гетерогенным заболеванием и обусловлен широким спектром молекулярно-генетических нарушений. Существующие системы гистологической классификации РЖ в большей степени оказывают влияние на выбор тактики лечения, однако конкретный выбор препаратов, в особенности таргетной терапии, в большей степени зависит от мутационного ландшафта опухоли конкретного пациента. В большинстве случаев, молекулярно-генетические маркеры, применяемые в настоящее время для назначения таргетных препаратов, охватывают исключительно группу больных с распространенными стадиями РЖ. Таким образом поиск новых молекулярных маркеров для индивидуализации лечебной тактики при РЖ является актуальной задачей.

Согласно молекулярной классификации атласа генома рака (The Cancer Genome Atlas, TCGA) и классификации Азиатской группы по исследованию рака (Asian Cancer Research Group, ACRG) Эпштейн-Барр-позитивный и микросателлитно нестабильный подтипы РЖ показали себя в качестве маркеров благоприятного течения заболевания с потенциальной возможностью применения иммунотерапевтических методов лекарственного лечения и таргетной терапии. Также клинический интерес несут нарушения в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, которые широко применяются в качестве прогностических и предиктивных маркеров для назначения препаратов при различных злокачественных новообразованиях, но полноценно не исследованы при РЖ как мире, так и, в особенности, в России.

Известно, что до 1-3% случаев РЖ имеют наследственный характер и возникают у носителей герминальных мутаций в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами. Также отмечена ассоциация РЖ с

другими раковыми синдромами. На сегодняшний день выявление герминальной мутации в таких генах служит ориентиром для персонализации лечебной тактики и алгоритма периодических обследований с целью раннего выявления вторых первичных опухолей у пациента-носителя мутации, что отражается на результатах проводимого лечения, заболеваемости раком и качестве жизни пациентов. Частота и спектр наследственно-обусловленных форм РЖ в российской популяции на сегодняшний день не изучены. Наконец, в связи со значительным повышением, в последнее время, частоты развития первично-множественных злокачественных новообразований (ПМЗНО), среди которых опухоли ЖКТ и, в частности, РЖ составляют существенную часть – интерес представляет изучение мутационного ландшафта ПМЗНО и выяснение доли наследственных и спорадических форм ПМЗНО.

Научная новизна

Научная новизна диссертационной работы Данишевич А.М. не вызывает сомнений и основана на исследовании молекулярно-генетического статуса вируса Эпштейн – Барр, микросателлитной нестабильности и генов *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* в образцах опухоли пациентов из группы спорадического РЖ и диагностике герминальных мутаций в 44 онкоассоциированных генах в группе больных с подозрением на наследственный РЖ с целью оценки частоты и клинического значения этих нарушений у пациентов российской популяции. Полученные результаты создают основу для разработки новых подходов прогнозирования и профилактики развития злокачественных новообразований у больных данной группы пациентов.

В результате исследования, кроме популяционной частоты и клинических характеристик Эпштейн-Барр-ассоциированного и микросателлитно нестабильного подтипов РЖ, установлено прогностическое значение этих маркеров при спорадическом раке желудка. Определена доля и спектр наследственных форм РЖ, обозначены их фенотипические характеристики, выявлены и описаны ранее не зарегистрированные герминальные варианты нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов из группы наследственного РЖ. Также в этой группе прослежена высокая частота молекулярных нарушений в генах системы репарации путем гомологичной рекомбинации и системы репарации неспаренных оснований, что на сегодняшний день имеет большое клиническое значение в связи с потенциальной возможностью применения таргетной и иммунотерапии. Продемонстрированные данные важны для практической медицины и направлены на повышение выявления генетически-обусловленных форм заболевания, усовершенствование методов профилактики рака и индивидуализацию лечения больных РЖ.

Достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и практических рекомендаций

Диссертационная работа Данишевич А.М. основана на достаточном по объему клиническом материале, включающем в себя результаты молекулярно-генетического исследования биологических образцов и клинических данных 310 пациентов с РЖ. Сбор, систематизация и анализ полученной информации соответствовали современным требованиям, предъявляемым к подобного рода изысканиям. Математическая обработка данных осуществлялась с использованием современного программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.0 (GraphPad Software, США).

Высокий научно-профессиональный уровень проведения исследования, довольно большие исследовательские группы и изложения полученных данных дает основание считать результаты, представленные исследователем, достоверными. Выводы и практические рекомендации логичны и полностью обоснованы полученными результатами.

Научно-практическая значимость и внедрение результатов исследования

Достоверность полученных результатов подтверждается дизайном научного исследования, большим количеством включенных в исследование пациентов, применением современных методов статистического анализа. Результаты, полученные в ходе исследования, позволили Данишевич А.М. сформулировать практические рекомендации по проведению исследования вируса Эпштейн-Барр, микросателлитной нестабильности при РЖ, а также дифференциальной диагностике, отбору и методике молекулярно-генетического тестирования при подозрении на наследственную форму РЖ пациентов из России. Результаты исследования внедрены в практическое использование в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Основные положения диссертационного исследования Данишевич А.М. были представлены на научно-практических конференциях с международным участием и опубликованы в 3-х статьях в журналах, рекомендованных ВАК.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации

Диссертационная работа изложена в традиционном стиле на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Литературный указатель включает 217 источников, из которых 12 отечественных и 205 зарубежных. Диссертация содержит 15 таблиц и 19 рисунков.

Диссертация оформлена с соблюдением всех требований к работам, направляемым в печать. Работа написана грамотным научным языком с хорошим

стилем изложения, легко читается. Особенностью работы является ее целостность и четкое структурирование.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, определены цель и задачи работы, представлена научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертации. Представлены методология и методы исследования, определены положения, выносимые на защиту, степень достоверности полученных результатов, результаты апробации, публикации по теме диссертации, ее объём и структура. Четко сформулированы цель и задачи исследования, которые соответствуют содержанию диссертации.

В первой главе проведен обзор литературы. Глава написана хорошим литературным языком, структурирована, отражает глубокие знания автора изучаемой проблемы, отражаясь в подробном освещении современных гистопатологических, молекулярно-генетических классификаций РЖ, клинического значения и существующих алгоритмов ведения больных при выявлении рассмотренных молекулярных нарушениях, методов диагностики и клинических характеристик наследственных опухолевых синдромов, ассоциированных с РЖ, показаний для медико-генетического консультирования. Также подробно освещены возможности современной молекулярно-генетической диагностики при РЖ. Глава изложена на 31 странице, включает 5 разделов, читается легко, с большим интересом, принципиальных замечаний нет.

Вторая глава «Материалы и методы» содержит подробное описание методики сбора, обработки, хранения биоматериала и проведения молекулярных методов исследования 310 биологических образцов больных РЖ I-IV стадий. Обследованные больные рандомизированы на 2 когорты: пациенты со sporadicким раком желудка (когорта I - 159 образцов опухоли) и больные с подозрением на наследственную форму РЖ (когорта II - 151 образец крови). Пациенты когорты II разделены на 2 подгруппы: подгруппа IIА с органспецифическим РЖ и подгруппа IIВ с РЖ в составе первично-множественных злокачественных новообразований. Глава изложена на 12 страницах, наполнена иллюстрациями и таблицами.

Глава три «Изучение фено-генетических характеристик sporadicческого рака желудка» посвящена собственным данным автора и включает результаты оценки частоты встречаемости Эпштейн-Барр-положительного, микросателлитно нестабильного и Эпштейн-Барр-негативного микросателлитно стабильного подтипов РЖ, их подробную клинико-морфологическую характеристику, сравнительный анализ общей выживаемости пациентов в зависимости от молекулярного подтипа опухоли, который показал статистически значимо более высокую выживаемость больных при Эпштейн-Барр-положительном РЖ по сравнению с микросателлитно нестабильным и микросателлитно стабильным Эпштейн-Барр-негативным подтипом. Также в разделе представлены результаты

изучения соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* и анализ полученных данных в сравнении с данными литературы. Отличительной особенностью исследования стало выявление сочетанных вариантов генов *KRAS* и *PIK3CA* в образцах РЖ с микросателлитной нестабильностью и отсутствие мутаций в кодонах 597–601 гена *BRAF*. Глава содержит обсуждение полученных результатов, изложена на 10 страницах, наполнена таблицами и рисунками.

Глава четыре «Изучение фено-генотипических характеристик наследственного рака желудка» содержит результаты проведенного молекулярно-генетического исследования образцов герминальной ДНК 151 пациента с применением массового параллельного секвенирования. В ходе анализа 44 онкоассоциированных генов у 15,2 % (n = 23) пробандов выявлен 21 клинически значимый вариант нуклеотидной последовательности в гетерозиготной форме в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами. В общей сложности наследственно-ассоциированный РЖ выявлен у 8,6 % (n=13) пациентов в составе синдрома наследственного рака молочной железы и яичников (гены *BRCA1/2* - 4,0 %), синдрома Линча (гены *MLH1* и *MSH2* - 2,0 %), *TP53*-ассоциированного опухолевого синдрома (ген *TP53* - 1,3 %), синдрома наследственного диффузного РЖ (ген *CDH1* - 0,7 %) и Ли – Фраумени-подобного синдрома (ген *CHEK2* - 0,7 %). Наибольшее число герминальных мутаций выявлено в генах системы репарации путем гомологичной рекомбинации *BRCA1/2*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* (42,9%) и в генах системы репарации неспаренных оснований *MLH1*, *MSH2*, *MLH3* (23,8%). Мутации в гене *BRCA2* превалировали над остальными вариантами. Автору удалось выявить новые, ранее незарегистрированные патогенные клинически значимые варианты в генах *BRCA2* (1 вариант) и *CDH1* (1 вариант), что является одним из достоинств данной работы. Описанные в работе клинические примеры позволяют в большей степени оценить клиническую значимость результатов исследования. Глава включает обсуждение полученных результатов, изложена на 22 страницах, наполнена рисунками и таблицами.

В главе «Заключение» подведены основные итоги проведенного исследования, их клиническая значимость, намечены дальнейшие перспективы исследований. Замечаний нет.

Выводы соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из результатов исследования, замечаний нет.

Практические рекомендации четко сформулированы и представляются клинически значимыми для применения в повседневной клинической практике. Следует отметить высокий уровень и целостность работы. Содержание работы полностью отражает полученные результаты, в соответствии с поставленными целями и задачами. По теме диссертации опубликовано 8 печатные работы, 3 из которых – в рецензируемых журналах ВАК при Минобрнауки России.

Замечания к работе

Есть некоторые упущения при статистическом анализе данных, можно было дополнительно провести сравнение распределения частот мутаций «горячих» точек генов KRAS и PIK3CA образцов опухоли желудка от пациентов когорты I, частот отягощенного семейного анамнеза пациентов – носителей мутации в подгруппе IIА и в подгруппе IIВ и некоторые другие.

Не было проведено статистическое сравнение I и II когорты пациентов по клинико-морфологическим параметрам. А также IIа и IIб между собой по клинико-морфологическим параметрам

В описании пациентов не приведены данные по их лечению.

Хочется также задать вопросы диссертанту:

1. Есть ли по литературным данным этнические особенности по частотам соматических мутаций в генах KRAS, BRAF и PIK3CA у больных раком желудка.
2. Известно ли что-нибудь об изменении у больных ПМЗНО соотношения наследственных опухолевых синдромов и спорадических форм в последние 10 лет.

Возникшие при оппонировании замечания не носят принципиальный характер и не уменьшают научно-практической значимости диссертации и достоверности полученных результатов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертационного исследования. Текст оформлен в соответствии с требованиями.

Заключение

Диссертационное исследование Данишевич Анастасии Михайловны «Изучение фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном и методическом уровне с использованием современных методов исследования, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение научной задачи – установлены особенности фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции, имеющей важное значение для клинической онкологии и практической медицины.

По своей актуальности, уровню и объему проведенных исследований, научной новизне полученных результатов и их практической значимости, способу решения поставленных задач диссертационная работа Данишевич А.М. полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «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 26 октября 2023г. №1786, от 25 января 2024г. № 62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Данишевич А.М. заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. - Онкология, лучевая терапия, 1.5.7. Генетика.

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Заведующий лаборатории онковирусологии

Научно-исследовательского института онкологии –

филиала Федерального государственного

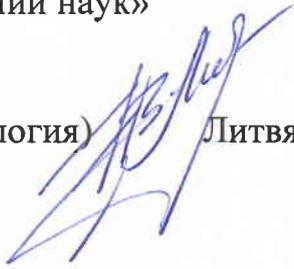
бюджетного научного учреждения

«Томский национальный исследовательский

медицинский центр Российской академии наук»

(НИИ онкологии Томского НИМЦ),

профессор РАН, д.б.н., (14.01.12 Онкология)

 Литвяков Николай Васильевич

Подпись Литвякова Н.В «Заверяю».

Ученый секретарь Томского НИМЦ

кандидат биологических наук



 Хитринская И.Ю.

Научно-исследовательский институт онкологии - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Адрес места работы: 634050, г. Томск, пер. Кооперативный 5.

Телефон: 8 (3822) 28-26-81, E-mail: nvlitv72@yandex.ru,

Сайт: <https://onco.tnime.ru/>

«12» марта 2025 г.