

ОТЗЫВ

официального оппонента, члена-корреспондента РАН, профессора, доктора биологических наук Чердынцевой Надежды Викторовны на диссертационную работу Семьянихиной Александры Владимировны «Молекулярно-генетическая диагностика при наследственном и спорадическом колоректальном раке», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 — Онкология и 03.02.07 – Генетика.

Актуальность темы исследования

Несмотря на существующие скрининговые программы, успехи в диагностике и лечении, рак толстой кишки продолжает занимать одно из лидирующих мест в структуре онкологической заболеваемости и смертности, при этом более чем у 20% больных на момент постановки диагноза верифицируется IV стадия. Выраженная тенденция к "омоложению" возраста развития заболевания, необходимость достижения длительной ремиссии и сохранения оптимального качества жизни у больных с метастатической болезнью определяет важную социальную значимость проблемы колоректального рака. Оптимизация ранних диагностических программ, персонализированный подход на всех этапах комплексного лечения, поиск новых терапевтических мишеней, основанный на молекулярном профилировании как опухолевого генома, так и индивидуальных генотипических особенностей, являются ведущими направлениями при планировании стратегии лечения больных раком толстой кишки, а также главными ориентирами научного поиска, в связи с чем актуальность выбранной темы диссертационного исследования не вызывает сомнений, а мультидисциплинарный подход, являющийся залогом успешного лечения онкологических больных и требующий интеграции специалистов смежных дисциплин, определяет приоритетность и актуальность выполнения научной работы на стыке двух специальностей – онкологии и генетики.

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

Молекулярная природа рака толстой кишки, определяющая фенотип опухоли, клиническое течение и прогноз заболевания, ответ на специфическое лечение, является предметом изучения в многочисленных научных российских и международных исследованиях. Не вызывают сомнений научная новизна и практическая значимость диссертационной работы Семьянихиной А.В. для отечественной онкологии, генетики, колопроктологии. Целью исследования был комплексный анализ молекулярно-генетических особенностей наследственного и спорадического колоректального рака с последующей оценкой их прогностического значения. Впервые на большом клиническом материале больных диссеминированным раком толстой кишки дана комплексная оценка частоты встречаемости патологического опухолевого *RAS/BRAF*-генотипа, а также микросателлитной нестабильности, на основании представленных результатов определены группы больных колоректальным раком неблагоприятного прогноза с выделением независимых факторов, влияющих на выживаемость без прогрессирования. Весомость представленных выводов аргументирована и подтверждается включением в многофакторный анализ не только молекулярных предикторов, но и клинических показателей.

Значительная часть диссертационной работы посвящена наследственно-обусловленным формам рака толстой кишки. Автором впервые в России оценена и показана низкая эффективность клинических критериев отбора «Амстердам» для генотипирования у больных синдромом Линча, подтверждена диагностическая ценность MSI-тестирования с применением панели моноклеотидных маркеров как высокочувствительного маркера синдрома Линча. Подробный анализ клинко-морфологических и анамнестических характеристик больных синдромом Линча позволил сделать аргументированные выводы о генотип-ассоциированных различиях в спектре вторых первичных опухолей, риске их развития, особенностях динамического наблюдения и

клинического течения линч-ассоциированного рака толстой кишки. Также автором впервые выполнена оценка выживаемости у пациентов с синдромом Линча в зависимости от патологического генотипа. Представленные данные позволили сделать вывод о внутрисиндромальной гетерогенности, отличности прогноза и необходимости выделения больных *MLH1*-ассоциированным колоректальным раком в группу менее благоприятного прогноза.

Отдельной заслугой автора является оценка эффективности применения технологий секвенирования нового поколения у больных наследственным раком толстой кишки. Адаптированная тергетная панель генов позволила с высокой конкордантностью со стандартными методиками верифицировать генетический диагноз, обозначила возможность диагностики наследственной синдромальной патологии уже на первом этапе в сложных дифференциально-диагностических клинических случаях.

В целом, работа характеризуется высокой научной обоснованностью каждого вывода и рекомендации. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и основана на репрезентативности выборок обследуемых, применении современных молекулярно-генетических методов и адекватных статистических подходов. Комплексность исследования достигается всесторонним изучением проблемы спорадического и наследственного рака толстой кишки, с методологически верным для клинициста-исследователя подходом – от патогенеза к заболеванию.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов

Диссертационная работа Семьянихиной Александры Владимировны наряду с фундаментальным характером исследования, включающим изучение ключевых молекулярных нарушений в патогенезе спорадического и наследственного колоректального рака с оценкой их прогностического значения, носит и прикладной характер с внедрением результатов и рекомендаций, полученных в ходе исследования, в клиническую практику. Представленные выводы о фенотипических характеристиках колоректального рака позволяют формировать

прогностические группы и персонализировать лечение, оптимизировать медико-генетическое консультирование, диагностику и профилактику больных наследственными формами рака толстой кишки. Полученные результаты служат основой для дальнейших научных фундаментальных исследований с клинико-практическим прикладным значением.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа изложена 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, включающего 303 источника: 5 отечественных и 298 зарубежных. Текст диссертации иллюстрирован 60 таблицами и 53 рисунками.

Во введении обоснованы актуальность исследования, сформулированы цель исследования и задачи, направленные на ее достижение.

В главе «Обзор литературы», основанной на данных отечественных и зарубежных исследований, представлен подробный анализ проблемы патогенеза, молекулярной стратификации рака толстой кишки, а также роли геномной нестабильности и патологической активации МАРК-киназного пути с описанием клинической манифестации данных нарушений. Полно и развернуто освещен вопрос наследственно-обусловленного колоректального рака в составе различной синдромальной патологии, а также современных возможностей молекулярно-генетического тестирования. Проведенный анализ подчеркивает важность поставленных в исследовании задач, а также необходимость комплексного подхода при изучении тематики колоректального рака.

В «Материалах и методах исследования» четко и детально представлены исследовательские группы, выполнен подробный анализ анамнестических данных больных наследственным колоректальным раком. Всего в исследование включены 365 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом РТК. Все пациенты стратифицированы на две исследовательские группы. 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). 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*.

Все представленные методики молекулярно-генетического тестирования соответствуют стандартам, пробоподготовка, ДНК-тестирование выполнено с применением зарегистрированных коммерческих наборов. Таргетное пиросеквенирование выполнено с использованием авторской разработанной мультигенной панели на платформе Roche Junior 454.

Статистическая обработка результатов исследования произведена с учетом методических требований статистического анализа с применением компьютерных программ Excel и IBM SPSS Statistics, конечными первичными точками определены выживаемость без прогрессирования в группе спорадического рака толстой кишки, общая выживаемость и опухоль-специфическая выживаемость в группе наследственного рака. Дополнительно оценены диагностические чувствительность, специфичность и точность клинических критериев отбора больных при диагностике синдрома Линча.

В основной части диссертационной работы представлены результаты собственных исследований. Согласно поставленным задачам автором оценены частота и спектр соматических мутаций в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*, выполнен анализ статуса микросателлитной нестабильности в образцах опухолевой ткани больных диссеминированным колоректальным раком. Представлены фенотипические особенности РТК в зависимости от выявленных молекулярных особенностей. Проведен меж- и внутригрупповой анализ. Так, пациенты с генерализованным раком толстой кишки характеризовались закономерно высокой частотой соматических мутаций в генах *RAS/BRAF* и низкой частотой опухолей с нестабильной системой репарации неправильно спаренных оснований. При выполнении многофакторного анализа автором показано, что независимыми

факторами прогноза, определяющими достоверно худшую выживаемость без прогрессирования, у больных генерализованным раком толстой кишки выступили патологический *KRAS*- и *BRAF*-генотипы, а также высокий уровень микросателлитной нестабильности, в группе опухолей с интактной MMR-системой *BRAF*-ассоциированный колоректальный рак определил наихудшую выживаемость без прогрессирования.

В группе больных наследственными формами предметно изучены полипозный и неполипозный варианты колоректального рака, выполнено ДНК-генотипирование на предмет наличия герминальных мутаций в генах *MLH1*, *MSH2* и *APC*. Автором доказана низкая диагностическая точность клинических критериев при отборе больных для MMR-генотипирования. Представлен подробный фено-генотипический сравнительный анализ больных синдромом Линча и семейным аденоматозным полипозом, подробно изучены частота и спектр опухолевой патологии в семейном анамнезе, а также первично-множественных злокачественных новообразований. На основании представленных результатов, в зависимости от генотипических особенностей сделаны выводы о прогностическом различии в прогнозе и скрининговых мероприятиях.

Отдельного внимания заслуживает оценка результатов исследования с применением технологии высокопроизводительного секвенирования. Все выявленные патогенные мутации в последующем верифицированы секвенированием по Сэнгеру, что говорит о высокой чувствительности примененного метода, а разработанная панель позволяет с высокой эффективностью за одно исследование подтвердить диагноз наследственного рака для нескольких больных, особенно в сложных для дифференциального диагноза случаях. Дополнительно автором выполнен биоинформатический анализ патогенности диагностированных вариантов с неизвестным клиническим значением с интерпретацией и оценкой патогенного влияния выявленных нарушений на течение основного заболевания и прогноз.

В главе «Обсуждение результатов исследования» представлен подробный сравнительный анализ результатов диссертационной работы с данными международных и отечественных исследований по теме диссертации. Приведены обоснованные научные суждения о каждом этапе выполнения диссертации. В целом, отмечается конкордантность представленных результатов и выводов с аналогичными заключениями других исследовательских работ.

В заключении автор обобщил результаты исследования и представил резюмированное содержание диссертационной работы.

Выводы диссертации следуют из представленных результатов и соответствуют поставленным в исследовании задачам. Завершают диссертацию практические рекомендации, которые вытекают из основного исследования и носят конкретное прикладное значение, направленное на индивидуализацию лечения, диагностики, профилактики и оптимизацию медико-генетического консультирования больных наследственными и спорадическими формами 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 полностью отражает суть и содержание диссертационной работы, иллюстрации достаточны и информативны.

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, в которой решена актуальная задача клинической онкологии и генетики – установлены молекулярно-генетические особенности наследственного и спорадического колоректального рака и их прогностическая значимость.

По своей актуальности, научной и практической значимости, новизне полученных результатов работа 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.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией

молекулярной онкологии и иммунологии

Научно-исследовательского института

онкологии Федерального государственного

бюджетного учреждения «Томский национальный

исследовательский медицинский центр

Российской академии наук»,

доктор биологических наук, профессор,

член-корреспондент РАН

 Чердынцева Н.В.

Адрес: 634009, Россия, г. Томск, пер Кооперативный 5

Тел.: 8(3822)51-10-39, e-mail: nvch@tnimc.ru

Подпись Н.В. Чердынцевой заверяю:

ученый секретарь Томского НИМЦ, к.б.н.



Хитринская И.Ю.

