

Отзыв

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Полякова Владимира Георгиевича на диссертационную работу Друя Александра Евгеньевича «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейрогенных опухолях у детей», представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия; 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Друя А.Е. посвящена актуальной теме современной детской онкологии – молекулярно-генетической диагностике нейрогенных эмбриональных опухолей, среди которых наиболее распространённой является нейробластома (НБ). Терапия НБ высокого риска включает все модальности современного противоопухолевого лечения, однако результаты продолжают оставаться неудовлетворительными – долгосрочная общая выживаемость пациентов не превышает 60%. При этом существующие методы стратификации пациентов на группы риска, основанные на клинических параметрах и отдельных молекулярно-генетических маркерах (амплификация гена *MYCN*, делеции короткого плеча хромосомы 1 и длинного плеча хромосомы 11), не могут в полной мере объяснить все случаи агрессивного течения заболевания и, напротив, выявить кандидатов для снижения интенсивности лечения без потери его эффективности. Данный факт указывает на актуальность изучения биологических свойств НБ, лежащих в основе её клинической гетерогенности, в том числе, позволяющих объяснить феномен спонтанного или терапевтически-индуцированного созревания опухоли.

Внедрение в клиническую практику иммунотерапии с помощью моноклональных антител к GD2 привело к значимому увеличению выживаемости больных, недоступному при использовании традиционных подходов в виде цитотоксической химиотерапии, хирургической резекции опухоли, лучевой терапии и поддерживающей терапии. Однако использование иммунотерапии на этапе консолидации не может обеспечить эффективный контроль рефрактерных форм заболевания, а также предотвратить развитие рецидива в значительной доле случаев. В связи с вышесказанным, перспективным является изучение иммунобиологических, в том числе, генетических и фенотипических, характеристик НБ с целью увеличения эффективности иммунотерапевтических подходов и расширения показаний к

применению данного вида лечения, в том числе, с применением ингибиторов контрольных точек иммунного ответа.

Изучение эффективности молекулярно-направленной терапии НБ продолжается в настоящее время. Было показано, что наиболее перспективной мишенью для таргетного воздействия является тирозинкиназа ALK, активированная в результате мутаций. Несмотря на отдельные публикации, свидетельствующие об эффективности использования ингибиторов ALK, в отечественной литературе не представлены данные, доказывающие пользу от применения данного вида лечения.

Таким образом, исследование молекулярно-генетических характеристик НБ и их корреляций с клиническими проявлениями заболевания, а также с данными визуализационных методов исследования, является актуальным и имеет своей целью увеличение точности стратификации пациентов на группы риска, индивидуализацию лечения, внедрение молекулярно-направленной терапии для увеличения выживаемости пациентов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В ретроспективно-проспективное исследование было включено 534 уникальных пациента, которые были разделены на фокус-группы для проведения отдельных молекулярно-генетических исследований, направленных на решение задач диссертационной работы, которые были однозначно сформулированы, как и цель исследования. Были применены современные высокотехнологичные молекулярные методы, включая экспрессионное профилирование мРНК и малых некодирующих РНК, высокопроизводительное секвенирование ДНК, а также технологии количественной МРТ. В работе были грамотно использованы современные методы биомедицинской статистики, свидетельствующие о достоверности полученных результатов. Значительная доля результатов работы была получена впервые, в том числе, негативное прогностическое значение потери экспрессии онкосупрессорных микроРНК, гетерогенность иммунного профиля НБ, идентичность молекулярных механизмов созревания центральных и периферических нейрогенных опухолей, возможность реализации агностических маркеров чувствительности к иммунотерапевтическим препаратам – микросателлитной нестабильности и высокой мутационной нагрузки в клетках опухоли.

В результате выполнения диссертационной работы были сформулированы шесть положений, выносимые на защиту, которые чётко отражают полученные результаты и выводы. Все данные содержатся в тексте диссертации, в таблицах,

а также проиллюстрированы в рисунках. Длительный период наблюдения за пациентами (медиана 4,6 года) свидетельствует о достоверности результатов анализа выживаемости пациентов.

Материалы диссертационной работы многократно докладывались на всероссийских и международных научно-практических конференциях и конгрессах. По результатам работы было опубликовано 36 печатных работ, в том числе, 18 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

В работе подробно описаны существующие критерии стратификации пациентов с НБ на группы риска, а также представлены и обоснованы рекомендации по их совершенствованию. Так, обосновывается польза экспрессионного профилирования образцов периферических нейрогенных опухолей с использованием ограниченной панели генов, что позволяет проводить исследование на фиксированном гистологическом материале. Впервые приводятся данные о комплементарном прогностическом значении нарушений экспрессии малых некодирующих РНК и достижения клеткой репликативной иммортализации за счёт активации теломеразы. Данные наблюдения значительно расширяют спектр молекулярных маркеров, используемых для определения риска развития рецидива и прогрессии НБ и рекомендуются для практического применения.

В результате выполнения исследования продемонстрирована роль мутаций в гене *ATRX*, определяющих специфический клинико-лабораторный феномен «подростковая НБ». Данные пациенты характеризуются наличием медленно, но неуклонно прогрессирующей опухоли, слабо чувствительной к химиотерапии и неспособной к дифференцировке. Полученные результаты указывают на обоснованность проведения максимально возможной безопасной резекции опухоли в данной группе пациентов, а также таргетной терапии, поскольку среди пациентов с НБ старшего возраста активирующие мутации в гене *ALK* встречаются более часто.

Анализ данных количественной МРТ продемонстрировал выраженную зависимость измеряемого коэффициента диффузии опухоли от содержания шванновской стромы (гистологического типа нейрогенной опухоли) и статуса гена *MYCN*. Полученные результаты открывают возможности проведения неинвазивной диагностики НБ, что наиболее актуально при наличии жизнеугрожающих симптомов, а также на фоне выраженной внутриопухолевой

гетерогенности, например, для выявления прогностически-неблагоприятной нодулярной ганглионейробластомы и оценки резидуальных компонентов опухоли, недоступных для резекции или биопсии.

Обработка полученных в работе результатов проведена с использованием адекватных и современных методов статистики, выбор которых соответствовал поставленным задачам. Продемонстрированные результаты применимы на практике, что позволяет внедрить их в систему оказания помощи больным периферическими нейрогенными опухолями в специализированных лечебных учреждениях по профилю «детская онкология».

Оценка содержания диссертации и общая характеристика работы

Диссертация построена по традиционному принципу. Оформление и последовательность изложения материала отвечают требованиям ВАК. Работа изложена на 343 страницах машинописного текста и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», главы с результатами исследования: «Экспрессионная гетерогенность нейрогенных опухолей», «Иммунология нейрогенных опухолей. Исследование взаимодействия опухоли и микроокружения», «Исследование молекулярных механизмов феномена созревания нейрогенных опухолей», «Анализ клинического значения генетических aberrаций, выявленных методом высокопроизводительного секвенирования ДНК», «Установление взаимосвязи между молекулярно-генетическими характеристиками и радиологическим фенотипом опухоли. Радиогеномика периферических нейрогенных опухолей», а также разделы «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список литературы». Библиографический указатель содержит 24 отечественных и 493 зарубежных публикаций. Работа включает 33 таблицы и иллюстрирована 98 рисунками.

Во введении приводится обоснование актуальности исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, представлены научная новизна и практическая значимость результатов. Также содержится информация о соответствии диссертационного исследования паспортам научных специальностей, личном вкладе автора и апробации полученных данных.

Глава «**Обзор литературы**» включает пять основных разделов:

1. Клинические и эпидемиологические характеристики периферических нейрогенных опухолей;
2. Патогенез и молекулярно-генетические маркёры НБ;
3. Патогенетическое и клиническое значение аномалий экспрессии генов при НБ;

4. Молекулярные основы иммунологии и иммунотерапии НБ;
5. Принципы классификации генетических вариантов в ткани опухоли;
6. Неинвазивная диагностика нейрогенных опухолей с применением количественной МРТ.

В главе «**Материалы и методы**» представлена методология получения и систематизации данных, критерии включения пациентов в исследование, используемые терапевтические подходы. Отдельно описаны молекулярно-генетические технологии, использованные в работе, технология получения данных количественной МРТ и методы биомедицинской статистики.

Глава «**Экспрессионная гетерогенность нейрогенных опухолей**» посвящена изучению экспрессионной гетерогенности НБ. На основании дифференциальной экспрессии генов в образцах благоприятных и неблагоприятных форм опухоли были определены транскрипты, представленность которых в клетках опухоли позволяет прогнозировать клиническое течение заболевания. Белковые продукты данных генов задействованы в физиологических процессах в нервной ткани и канцерогенезе, что определяет патогенетическое значение дифференциально экспрессируемых генов. На их основании была разработана диагностическая панель, использование которой способно улучшить стратификацию пациентов, особенно групп низкого и промежуточного риска, что позволяет рекомендовать интенсификацию терапии в прогностически неблагоприятной группе. На основании экспрессионного профилирования опухолей были определены сигнальные пути, доминирующие в молекулярном патогенезе НБ, среди которых RAS-RAF-MEK и PI3K-AKT-mTOR, являющиеся перспективными для фармакологического воздействия. Активация сигнального каскада RAS-RAF-MEK была подтверждена наличием экспрессии фосфорилированной формы белков ERK, являющихся эффекторами пути, в большинстве случаев НБ вне зависимости от конвенциональной группы риска и молекулярно-генетических маркеров заболевания.

В группе неблагоприятных НБ отмечено глобальное снижение экспрессии множества микроРНК, среди которых онкосупрессорная микроРНК miR-128-3p. Было отмечено, что потеря экспрессии данной микроРНК является независимым негативным фактором прогноза и комплементарно дополняется активацией экспрессии гена каталитической субъединицы теломеразы *TERT*. Сочетание данных экспрессионных аномалий приводит к крайне высокому риску развития неблагоприятного события.

В главе **«Иммунология нейрогенных опухолей. Исследование взаимодействия опухоли и микроокружения»** приводится анализ взаимодействия НБ с клетками иммунной системы, который был осуществлен на основании исследования мРНК генов, вовлечённых в иммунологические реакции. В качестве модели высокоиммуногенной опухоли были взяты образцы НБ, сопровождающейся развитием паранеопластического синдрома опсоклонус-миоклонус (ОМС). На основании различий в экспрессии генов в опухолях с наличием и отсутствием ОМС была определена 20-генная сигнатура, позволяющая разделять случаи НБ по степени их иммуногенности. Данное разделение воспроизводилось на независимой когорте больных с НБ, не сопровождающейся развитием ОМС. Поскольку среди дифференциально экспрессирующихся генов были отмечены гены корепрессорных молекул PD1 и CTLA4, данная сигнатура может стать полезным предиктивным маркером эффективности терапии ингибиторами иммунных контрольных точек.

В главе **«Исследование молекулярных механизмов феномена созревания нейрогенных опухолей»** приводятся результаты исследования созревания НБ и опухолей ЦНС, что является чрезвычайно редким событием. На основании анализа парных образцов опухоли в дебюте заболевания и после регистрации созревания, были выявлены специфические траектории изменения экспрессионного профиля, общие как для НБ, так и для первичных опухолей ЦНС. Было установлено, что при созревании активны пути RAF-МЕК, PI3K-AKT-mTOR, нарастает иммуногенность опухоли. Напротив, клетка теряет пролиферативный потенциал и снижает уровень геномной нестабильности. Нейротрофиновая (NTRK1-зависимая) теория созревания нашла свое подтверждение у пациентов с НБ младше 18 мес., тогда как у пациентов старше 18 мес. и с опухолями ЦНС в качестве основных триггеров созревания выступают экспрессионные aberrации генов эпигенетических модификаторов и транскрипционных факторов. Секвенирование опухолевой ДНК случаев, подвергшихся созреванию, выявило обогащение опухолей активирующими мутациями в компонентах сигнального пути RAS-RAF-МЕК.

В главе **«Анализ клинического значения генетических aberrаций, выявленных методом высокопроизводительного секвенирования ДНК»** представлены данные проспективной части исследования, куда вошли 270 пациентов, в первую очередь, с НБ группы высокого риска и с рецидивирующим течением опухоли, которым было выполнено NGS опухолевой ДНК с первостепенной целью поиска мишеней для молекулярно-направленной терапии. Таковыми явились активирующие мутации в тирозинкиназном домене

ALK, позволившие использовать соответствующие низкомолекулярные ингибиторы у 20 пациентов. Наиболее эффективным из них оказался лорлатиниб, назначенный у 12 пациентов и позволивший добиться частоты объективных ответов более 65% в сочетании с химиотерапией у предлеченных пациентов. Важной с клинической точки зрения является идентификация мутаций в гене *ATRX*, которые определяют запуск альтернативного пути удлинения теломер и достижения клеткой репликативной иммортализации. Данные мутации наиболее часто выявляются у пациентов с НБ старше 6,58 лет на момент постановки диагноза и позволяют объективизировать второй период изменения биологии НБ с переходом к «подростковым» НБ, характеризующимся индолентным прогрессирующим течением и химиорезистентностью. Было продемонстрировано негативное прогностическое значение aberrаций гена *NOTCH1*, а также возможность реализации таким агностических предикторов, как микросателлитная нестабильность и высокая мутационная нагрузка.

В главе «Установление взаимосвязи между молекулярно-генетическими характеристиками и радиологическим фенотипом опухоли. Радиогеномика периферических нейрогенных опухолей» представлены результаты генотип-фенотипических корреляций молекулярных маркеров НБ с характеристиками опухоли, получаемыми при проведении количественной МРТ. В целом, исследование соответствует современной тенденции к использованию неинвазивных технологий, в том числе, для изучения биологических характеристик опухоли. Было показано, что измеряемый коэффициент диффузии (ИКД) является важной количественной характеристикой, позволяющей неинвазивно прогнозировать гистологический тип опухоли и наличие амплификации гена *MYC*. Данный результат особенно важен для корректной диагностики прогностически неблагоприятной нодулярной формы ганглионейробластомы при невозможности резекции всего массива опухоли. Отмечено, что среди *MYC*-негативных НБ, ИКД сохраняет своё прогностическое значение и, вместе с геномным типом опухоли, выступает в качестве независимого фактора прогноза.

В главе «Обсуждение» представлено обобщение полученных результатов и их сопоставление с опубликованными данными, полученными российскими и зарубежными учёными.

Выводы логично следуют из данных, полученных в ходе выполнения исследования. **Практические рекомендации**, сформулированные на основании результатов исследования, носят прикладной характер и могут быть

реализованы в практике молекулярно-генетических лабораторий и клинических отделений, оказывающих лечебную и диагностическую помощь детям с периферическими нейрогенными эмбриональными опухолями.

Диссертационная работа оформлена с соблюдением требований к научно-квалификационным работам на соискание учёной степени доктора медицинских наук.

Автореферат Друя А.Е. полностью отражает содержание работы и соответствует установленным требованиям.

Значимость результатов работы для науки и практики

Выявленные диссертантом молекулярно-генетические факторы прогноза НБ могут быть использованы в практике детских онкологов для прецизионной стратификации пациентов на группы риска, что позволит избежать избыточной интенсивности лечения пациентов с благоприятной формой НБ, что может привести к снижению вероятности развития и степени выраженности отдалённых побочных эффектов терапии, и, напротив, интенсифицировать лечение за счёт применения современных технологий таргетной и иммунотерапии у больных неблагоприятной НБ. Оба подхода, в конечном итоге, направлены на увеличение долгосрочной выживаемости пациентов.

Результаты анализа данных визуализации могут послужить стимулом для внедрения метода количественной МРТ для предоперационного стадирования пациентов, что позволит не только оценивать хирургические факторы риска, но также анализировать структуру опухоли и прогнозировать наличие прогностически-значимых молекулярных aberrаций.

Заключение

Диссертационная работа Друя Александра Евгеньевича «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейрогенных опухолях у детей», представленная на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия; 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика, является законченным научным трудом, в котором решена актуальная проблема улучшения стратификации пациентов на группы риска и повышения эффективности лечения путём внедрения современных высокотехнологичных методик молекулярно-генетического профилирования и количественной МРТ.

По актуальности, научной и практической значимости, объёму проведённых исследований, количеству публикаций в рецензируемых изданиях

и личному вкладу автора диссертационная работа Друя А.Е. соответствует критериям п.9, п.10., п.11 раздела II «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённому постановлением правительства РФ от 24.09.2013 №842 (со всеми изменениями и дополнениями в последующих редакциях), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора медицинских наук, а её автор Друй Александр Евгеньевич заслуживает присуждения учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия; 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент

Советник директора
НИИ детской онкологии и гематологии
имени академика РАМН Л.А.Дурнова
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России,
академик РАН, д.м.н., профессор

В.Г. Поляков

Подпись академика РАН, д.м.н., профессора В.Г. Полякова заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, к.м.н.



И.Ю. Кубасова

«12» мая 2025 г.

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

(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России)

Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

Телефон: 8 (499) 324-11-14, E-mail: info@ronc.ru, <https://www.ronc.ru>

Сведения

об официальном оппоненте

по защите диссертационной работы Друзя Александра Евгеньевича на тему «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейрогенных опухолях у детей», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия; 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика

| Ф.И.О. | Год рождения, гражданство | Место основной работы, должность | Учёная степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация) | Учёное звание (по специальности или по кафедре) | Шифр специальности и отрасли науки | Основные работы |
|-----------------------------|----------------------------|--|--|---|-------------------------------------|--|
| Поляков Владимир Георгиевич | 1949, Российская Федерация | Советник директора НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова | Доктор медицинских наук Докторская диссертация защищена по специальности 14.00.14 – Онкология | Академик РАН, профессор | 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия | 1. Левашов, А.С. Опыт применения протокола like-SJMB03 в лечении детей с медуллобластомой в возрастной группе старше 3 лет: результаты межцентрового пилотного исследования / А.С. Левашов, С.Р. Загидуллина, Т.Г. Валиев, А.М. Строганова, Д.А. Хоченков, В.А. Григоренко, Е.В. Михайлова, Е.В. Тюрина, М.В. Рыжова, С.К. Горельшев, Ш.У. Кадыров, В.Г. Поляков // |

| | | | | | |
|--|--|--|--|--|---|
| | | <p>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России</p> | | | <p>Современная онкология. – 2024. – Т. 26, – № 1. – С. 80-86.</p> <p>2. Степанян, Н.Р. Оценка безопасности и эффективности методики мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп со злокачественными новообразованиями: опыт одного центра / Н.Г. Степанян, К.И. Киргизов, Е.Б. Мачнева, .Р. Фатхуллин, Т.З. Алиев, И.О. Костарева, А.П. Казанцев, Н.В. Матинян, В.В. Жогов, М.В. Рубанская, О.М. Романцова, Н.А. Батманова, Т.Т. Валиев, Т.В. Горбунова, В.Г. Поляков, С.Р. Варфоломеева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2024. – Т. 103, – № 3. – С. 21-30.</p> <p>3. Hicks, R.M. Differences in Childhood Growth Parameters Between Patients With Somatic and Heritable Retinoblastoma / R.M. Hicks, X. Ji, Y. Zou, S. Sultana, R. Rashid, S.T. Sherief, N. Cassoux, Ju.L. Garcia Leon, R.Y. Diaz</p> |
|--|--|--|--|--|---|

| | | | | | |
|--|--|--|--|--|---|
| | | | | | <p>Coronado, A.M.Z. López, T.L. Ushakova, V.G. Polyakov et al. // Investigative Ophthalmology and Visual Science. – 2024. – Vol. 65, No. 4. – P. 39.</p> <p>4. Ушакова, Т.Л. Анализ дифференциально-диагностических особенностей ретинобластомы и глазной патологии, имитирующей ретинобластому / Т.Л. Ушакова, В.Г. Поляков, О. В. Югай и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2024. – Т. 11, – № 2. – С. 28-39.</p> <p>5. Ердомаева, Я.А. Ранняя диагностика в детской онкологии /гематологии / Я.А. Ердомаева, К.И. Киргизов, С.А. Коган Г.Б. Сагоян, Т.Т. Валиев, В.Г. Поляков, С.Р. Варфоломеева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2023. – Т. 102, – № 3. – С. 107-114.</p> <p>6. Родина, А.Д. CMMRD-ассоциированная эмбриональная рабдомиосаркома у ребенка.</p> |
|--|--|--|--|--|---|

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|---|
| | | | | | | Клинический случай с обзором литературы / А.Д. Родина, В.Г. Поляков , А.С. Крылов и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2023. – Т. 10, – № 3. – С. 89-100. |
|--|--|--|--|--|--|---|

Не являюсь членом экспертного совета ВАК.

На обработку персональных данных согласен.

Советник директора НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А.Дурнова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России,

академик РАН, д.м.н., профессор

В.Г. Поляков

Подпись академика РАН, д.м.н., профессора В.Г. Полякова заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, к.м.н.

« 12 » март 2025 г.



И.Ю. Кубасова