



Известно, что НБ характеризуется значительной вариабельностью клинического течения: от благоприятных форм, склонных к спонтанной регрессии или созреванию до высокоагрессивных, требующих сочетания множества методов противоопухолевого лечения, включая интенсивную индукционную химиотерапию, локальный контроль с использованием хирургических технологий и лучевой терапии, высокодозную химиотерапию с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, дифференцировочную терапию. При этом результаты лечения агрессивных форм НБ остаются достаточно низкими – пятилетняя общая выживаемость пациентов не превышает 60%.

Учитывая выраженную клиническую гетерогенность НБ, были разработаны различные схемы стратификации пациентов на группы риска для проведения риск-адаптированной терапии. Данные схемы включают клинические (возраст, стадия заболевания, наличие хирургических факторов риска), морфологические (зрелость клеточных элементов, содержание шванновской стромы, индекс митоз-кариорексис) и молекулярно-генетические (плоидность опухолевых клеток, амплификация гена *MYC*, делеции короткого плеча хромосомы 1 и длинного плеча хромосомы 11) факторы риска. При этом ни одна из предложенных схем стратификации не обладает абсолютной специфичностью, и ни один из стандартных факторов риска не способен объяснить все случаи неблагоприятного течения опухоли. Биология НБ не ограничивается конвенциональными молекулярными маркерами, и их перечень остро нуждается в расширении для увеличения точности прогнозирования наступления рецидива или прогрессии опухоли.

Поворотным моментом в лечении НБ высокого риска явилось включение в терапевтические протоколы моноклональных антител к дисиаialogанглиозиду *GD2*. Несмотря на высокую эффективность данного метода иммунотерапии, его использование в составе консолидационной терапии в значительной доле случаев не предотвращает развитие прогрессии заболевания. Это может быть связано с потерей антигена опухолевыми клетками, сложной гистоархитектоникой опухолевых узлов, формированием

ингибиторного микроокружения опухоли, препятствующего полноценной реализации антитело-зависимой цитотоксичности. Это указывает на необходимость поиска предиктивных маркеров эффективности иммунотерапии моноклональными антителами к GD2, а также недавно появившемуся методу лечения – GD2-направленной CAR-T-клеточной терапии.

Кроме того, путь к увеличению выживаемости пациентов с различными злокачественными опухолями, в том числе, НБ, лежит в области молекулярно-направленной терапии. Проведение таргетной терапии требует обязательного выявления предиктивного маркера (мишени) – активированного в результате мутации или перестройки компонента пролиферативного внутриклеточного каскада. Только в этом случае применение низкомолекулярных ингибиторов будет обладать должной эффективностью. Среди валидированных молекулярных мишеней при НБ является каназа ALK, активированная в результате миссенс-мутаций. Исследования эффективности ингибиторов ALK при НБ продолжаются в настоящее время. В данной диссертационной работе представлены первые результаты систематического использования ингибиторов ALK у пациентов с НБ группы высокого риска и с рецидивирующим течением заболевания.

Тенденция современной онкологии заключается в минимизации инвазивности диагностических процедур с одновременным увеличением информативности и объема знаний, получаемых при диагностических вмешательствах. Это реализуется в развитии технологий жидкостной биопсии, а также появлению направления «радиогеномика» – совокупности знаний, полученных на стыке рентгенологии и молекулярной диагностики опухолей. Было показано, что наличие клинически-значимых молекулярных маркеров может быть эффективно спрогнозировано на основании рентгеносемиотики опухоли, а также количественных характеристик, получаемых при визуализационном исследовании. У пациентов с НБ раннего возраста, с наличием хирургических факторов риска или жизнеугрожающих клинических проявлений опухоли, применение радиогеномных подходов для

определения молекулярно-генетических факторов риска является абсолютно востребованным.

Таким образом, диссертационная работа Др. Друзя А.Е. посвящена важной проблеме детской онкологии – увеличению точности диагностики периферических нейрогенных опухолей, а выводы и практические рекомендации, сформулированные по результатам исследования, позволят улучшить результаты терапии данных пациентов.

### **Новизна исследования, достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научная новизна диссертационного исследования не вызывает сомнений. Ряд положений и закономерностей были выявлены впервые, среди них негативное прогностическое значение снижения экспрессии в клетках НБ множества микроРНК, осуществляющих посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов, и конкретно онкосупрессорной микроРНК miR-128-3p; наличие выраженной гетерогенности НБ по уровню иммунореактивности и степени взаимодействия с клетками микроокружения; идентичные механизмы, лежащие в основе феномена созревания нейрогенных опухолей центральной и периферической локализации; возможность реализации микросателлитной нестабильности в клетках НБ. Были определены критерии диагностики клинического феномена «подростковой НБ» - наличие инактивирующих aberrаций гена *ATRX* и возраст старше 6,58 лет. В ходе диссертационного исследования была разработана оригинальная мультигенная экспрессионная панель, пригодная для прогнозирования клинического течения НБ и позволяющая использовать для диагностики фиксированный опухолевый материал.

Достоверность результатов исследования обеспечена значительным количеством пациентов (534 больных), использованием современных высокотехнологичных методов молекулярной генетики (среди которых профилирование экспрессии генов на платформах *Agilent* и *NanoString*, высокопроизводительное секвенирование ДНК, секвенирование по Сэнгеру, сравнительная геномная гибридизация, мультиплексная лигазно-зависимая

амплификация зондов) и медицинской визуализации, а также грамотным выбором актуальных методик биоинформатического анализа и статистической обработки данных.

Выводы логично вытекают из результатов работы, полностью соответствуют поставленным задачам исследования. Практические рекомендации обоснованы и выполнимы.

### **Соответствие содержания диссертации паспортам специальностей**

Диссертационная работа Др. Друзя А.Е. соответствует Паспорту специальности 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия, а именно: п. 2. «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)» и п. 6. «Изучение на молекулярном, клеточном и органном уровнях особенностей возникновения и развития онкологических заболеваний в детском и подростковом возрасте. Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики в области педиатрической онкологии»; 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика, а именно: п. 3. «Клинико-лабораторные методы исследования для определения тяжести, периода и срока болезни, прогноза, контроля за лечением и его результатами»; 5. «Разработка теоретической базы для поисковых диагностических программ»; 9. «Разработка методов иммунологических исследований. Антигены эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, белков плазмы, HLA-системы. Оценка функциональной активности клеток иммунной системы. Антитела естественные, иммунные и аутоиммунные, иммунные комплексы. Медиаторы иммунитета. Оценка иммунного статуса организма. Мониторинг иммунокорректирующей терапии. Иммунофенотипическая характеристика клеток при заболеваниях крови. Онкоиммунология; и п. 11. «Цитогенетические и молекулярно-генетические методы исследований». Диссертационное исследование имеет непосредственную связь с одним из направлений клинической онкологии –

улучшение результатов лечения пациентов детского возраста со злокачественными новообразованиями.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Определённые в результате исследования молекулярно-генетические факторы прогноза НБ могут быть использованы в клинической практике с целью увеличения точности стратификации больных на группы риска и управления интенсивностью терапии. Это, с одной стороны, позволит профилактировать непосредственные и отдалённые нежелательные явления, связанные с лечением, с другой – увеличить эффективность терапии за счёт внедрения инновационных технологий таргетной и иммунотерапии. Показанная в работе хорошая переносимость и потенциальная эффективность ингибиторов ALK указывает на возможность расширения их использования в лечении пациентов с агрессивной НБ и делает молекулярное тестирование опухоли абсолютно необходимым для назначения данного вида терапии.

Важным с практической точки зрения является объективизация второго возрастного периода смены биологии и клинического течения НБ на основании выявления aberrаций гена *ATRX*. Первый переход в клинику НБ хорошо известен детским онкологам, связан с возрастом манифестации заболевания младше и старше 12 мес. (по отдельным данным 18 мес.). У больных младшего возраста наблюдается благоприятное течение опухоли, с возможностью регресса и созревания НБ, тогда как у пациентов старше 12 (18) мес. – агрессивное. Средством биологической объективизации данного перехода является смена рецепторного репертуара нейротрофинового сигнализирования (с TrkA на TrkB) и цитогенетического профиля опухоли (с количественных хромосомных aberrаций на сегментарные). Второй возрастной переход охарактеризован значительно меньше, хотя существуют многочисленные клинические наблюдения об индолентном, неуклонно прогрессирующем течении НБ при манифестации заболевания на второй декаде жизни. В работе было показано, что данный клинический феномен может быть объяснён инактивирующими aberrациями в гене *ATRX*, а также

приведено пороговое значение возраста, после которого данные генетические аномалии выявляются достоверно более часто – 6,58 лет. Опухоли с дефицитом *ATRX* неспособны к созреванию и требуют проведения противоопухолевого лечения даже при стратификации пациента в группу наблюдения на основании стандартных факторов риска.

Также практически значимым является доказательство возможности неинвазивного прогнозирования гистологического типа нейrogenной опухоли и статуса гена *MYCN* на основании величины измеряемого коэффициента диффузии опухоли, определяемого при проведении количественной МРТ. Более того, было показано, что ограничение диффузии является независимым прогностическим фактором у пациентов с нормальным количеством копий гена *MYCN*.

Ряд фактов, выявленных в ходе выполнения исследования в настоящее время не имеют практической реализации, но, несомненно, обладают научной значимостью. Среди них доказательство патогенетического значения глобальной дисрегуляции системы микроРНК в клетках агрессивных НБ; выявление групп иммунологически «холодных» и «горячих» опухолей и определение клеточного состава реактивного микроокружения последних; анализ молекулярных механизмов созревания опухолей нейроэктодермального происхождения и доказательство их универсальности.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные автором результаты могут быть применены в практическом здравоохранении в специализированных лечебных учреждениях онкологического профиля, оказывающих помощь пациентам детского возраста, а также в научно-исследовательской и педагогической деятельности. Практические рекомендации, сформулированные на основании результатов работы, выполнимы в крупных центрах при наличии специализированных клинических и лабораторных подразделений, а также в

условиях национальной референс-диагностики в патоморфологии, молекулярной генетике и рентгенологии.

Внедрение результатов и выводов диссертационной работы Друя А.Е. в практическое здравоохранение позволит увеличить точность диагностики периферических нейрогенных опухолей, в том числе, с применением неинвазивных технологий, а также прецизионность определения групп риска у пациентов с НБ. Результаты исследования могут способствовать увеличению доступности таргетной и иммунотерапии прогностически неблагоприятных форм НБ. Всё перечисленное может послужить основой для увеличения выживаемости пациентов с периферическими нейрогенными опухолями.

### **Содержание диссертации, её завершённость**

Диссертационная работа Друя А.Е. написана в традиционном стиле и содержит следующие разделы: введение (с указанием актуальности исследования, степени разработанности темы, цели, задач работы, научной новизны, научно-практической значимости, методологии и методов исследования, положений, выносимых на защиту, внедрении результатов работы в практику, степени достоверности результатов и апробации работы), обзор литературы, материалы и методы исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, а также списки используемых сокращений и литературы, приложения. Объем работы составляет 343 страницы машинописного текста. Работа проиллюстрирована 33 таблицами и 98 рисунками. Библиографический список включает 24 отечественных и 493 зарубежных публикаций. Диссертационная работа демонстрирует владение автором современными данными литературы по рассматриваемой теме.

Во введении обосновывается актуальность избранной темы, представлена степень её разработанности, чётко сформулированы цель и задачи исследования. Представлены научная новизна и практическая значимость работы.

«Обзор литературы» написан подробно, включает современные данные о клинике и эпидемиологии периферических нейрогенных опухолей; патогенезе и молекулярно-генетические маркёрах НБ; значении экспрессионных аномалий генов и микроРНК при НБ; иммунологии и иммунотерапии НБ; принципах анализа данных высокопроизводительного секвенирования опухолевой ДНК, количественной МРТ в диагностике НБ.

В главе «Материалы и методы» описываются методология сбора данных, критерии включения пациентов в исследование, молекулярно-генетические технологии, методика проведения количественной МРТ, инструменты биоинформатики и критерии биомедицинской статистики.

Главы «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» посвящены результатам собственных исследований.

В главе «Обсуждение» осуществлено обобщение полученных результатов, их сравнительная оценка и критическое осмысление относительно результатов других исследований, опубликованных по данной тематике.

Выводы отражают основные результаты проведённого исследования. Практические рекомендации носят прикладной характер и могут быть внедрены в практику молекулярно-генетических лабораторий и клинических отделений специализированных центров.

Диссертация и автореферат диссертации оформлены в соответствии с требованиями, предъявляемыми к написанию диссертаций и авторефератов (ГОСТ Р 7.0.11-2011). Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и представляет собой объёмное, целостное научное исследование.

Статистическая обработка данных проведена с использованием современных и актуальных методов и программ.

Диссертационная работа оформлена с соблюдением требований к научно-квалификационным работам на соискание учёной степени доктора медицинских наук. Принципиальных замечаний по написанию диссертации и автореферата нет.

### **Недостатки по содержанию и оформлению работы**

Работа заслуживает положительной оценки. Отмечена высокая научно-практическая ценность диссертационной работы. Выявленные недочёты носят технический характер и не умаляют ценности выполненной работы. Принципиальных замечаний по сформулированным в работе цели и задачам исследования, выбору методологических подходов и обоснованности выдвинутых автором положений и выводов нет.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Друя Александра Евгеньевича на тему: «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейрогенных опухолях у детей», является законченной научно-квалификационной работой, в котором решена актуальная проблема улучшения диагностики и повышения эффективности лечения пациентов с периферическими нейрогенными опухолями путём внедрения современных высокотехнологичных методик молекулярно-генетического профилирования и количественной МРТ.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объёму и уровню проведенного исследования диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями от 25.01.2024 г., № 62) утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а её автор Друй Александр Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских

наук по специальностям: 3.1.6.Онкология, лучевая терапия и 3.3.8.Клиническая лабораторная диагностика.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева и кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол № 2025/04-08 от 24 апреля 2025 года.

Профессор кафедры гематологии,  
трансфузиологии и трансплантологии  
с курсом детской онкологии факультета  
послевузовского образования имени  
профессора Б.В. Афанасьева ФГБОУ ВО  
«ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор

Л.С. Зубаровская

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики с курсом  
молекулярной медицины ФГБОУ ВО  
«ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор



Подпись руки заверяю: *Зубаровская Л.С.*  
Спец. по кадрам *Е.В. Руденко*  
"24" 04 2025

В.Л. Эмануэль

197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8,  
тел. 8(812) 338-78-95, e-mail: info@lspbgnu.ru; https://www.lspbgnu.ru/ru/



Подпись руки заверяю: *В.Л. Эмануэль*  
Специалист по кадрам  
Е.В. Руденко *Е.В. Руденко*  
"24" 04 2025 г.

В диссертационный совет Д21.1.025.01  
на базе ФГБУ «Национальный  
медицинский исследовательский центр  
детской гематологии, онкологии и  
иммунологии имени Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
(117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1)

### СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Друя Александра Евгеньевича на тему: «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейrogenных опухолях у детей», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.1.6.Онкология, лучевая терапия и 3.3.8.Клиническая лабораторная диагностика.

Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сокращенное наименование организации	ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России
Местонахождение	197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8
Адрес эл. почты, телефон	<a href="mailto:info@ispbgmu.ru">info@ispbgmu.ru</a> , 8(812)338-78-95, 338 6799
Фамилия Имя Отчество ученой степени, ученое звание руководителя ведущей организации	Багненко Сергей Федорович – ректор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
Фамилия Имя Отчество лица, утвердившего отзыв ведущей организации, ученая степень, звание	Кулагин Александр Дмитриевич – проректор по научной работе, доктор медицинских наук, доцент
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание сотрудника, составившего отзыв	Зубаровская Людмила Степановна - профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии ФПО, доктор медицинских наук,

ведущей организации	<p>профессор</p> <p>Эмануэль Владимир Леонидович - заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, доктор медицинских наук, профессор</p>
<p>Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Goloshchapov O.V. Safety, Feasibility, and Advantages of Oral Microbiota Transplantation: The First Clinical Case / O.V. Goloshchapov, A.B. Chukhlovin, D.S. Bug et al. // Journal of Pediatric Hematology/Oncology. – 2024. – DOI 10.1097/mpH.0000000000002896. – EDN JZDOYJ.</li> <li>2. Гургенидзе Н.Н. Сосудистая реконструкция у детей в онкологическом центре: клинические наблюдения / Н.Н. Гургенидзе, Г.И. Попов, А.Н. Ананьев и др. // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2024. – Т. 14, – № 4. – С. 551-564. – DOI 10.17816/psaic1854. – EDN JLUCZL.</li> <li>3. Гургенидзе, Н.Н. Реконструктивная хирургия сосудов в детской онкологии: обзор литературы / Н.Н. Гургенидзе, Г.И. Попов, А.А. Кутенков и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2022. – Т. 9, – № 4. – С. 53-63. – DOI 10.21682/2311-1267-2022-9-4-53-63. – EDN SPLJMZ.</li> <li>4. Казанцев И.В. Иммуноterapia специфическими антителами к GD2 у пациентов с нейробластомой группы высокого риска, а также пациентов с первично-резистентными формами и рецидивами нейробластомы: опыт НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова / И. В. Казанцев, А. Г. Геворгян, Т. В. Юхта и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2021. – Т.8, – № 3. – С. 14-29. – DOI 10.21682/2311-1267-2021-8-3-14-29. – EDN RVZDSQ.</li> <li>5. Казанцев И.В. Современные возможности иммунотерапии злокачественных заболеваний у детей / И. В. Казанцев, К. В. Лепик, И. С.</li> </ol>

- Моисеев, Л. С. Зубаровская // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 4. – С. 8-17. – DOI 10.24110/0031-403X-2020-99-4-8-17. – EDN UIPPPZ.
6. Казанцев И.В. Интенсивная комплексная терапия пациентов с первично-резистентным течением и рецидивами нейробластомы: опыт НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой / И. В. Казанцев, А. Г. Геворгян, Т. В. Юхта и др. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2020. – Т. 19, – № 2. – С. 129-140. – DOI 10.24287/1726-1708-2020-19-2-129-140. – EDN ORUZZTV.
7. Kazantsev I.V. A long-term response to allogeneic hemopoietic stem cell transplantation from haploidentical donor and post-transplant therapy in an adolescent with primary resistant neuroblastoma / I.V. Kazantsev, T.V. Iukhta, A.G. Gevorgian et al. // Cellular Therapy and Transplantation. – 2020. – Vol. 9, – No. 2. – P. 71-77. – DOI 10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-2-71-77. – EDN VJMWKP.
8. Казанцев И.В. Особенности клинического течения и биологических характеристик нейробластомы у подростков и молодых взрослых. Описание серии клинических случаев и обзор литературы / И.В. Казанцев, А.Г. Геворгян, Т.В. Юхта и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2020. – Т. 7, – № 3. – С. 13-21. – DOI 10.21682/2311-1267-2020-7-3-13-21. – EDN NARTMP.
9. Хачатурян А.Г., Назаров В.Д., Лапин С.В., Сидоренко Д.В., Дубина И. А., Первакова М.Ю., Вильгельми А.А., Эмануэль В.Л. Лабораторная характеристика гемоглобинопатий. Гематология и трансфузиология. 2024;69(1):40–51.
10. Хачатурян А.Г., Назаров В.Д., Дубина И.А., Лапин С.В., Сидоренко Д.В., Вильгельми А.А., Первакова М.Ю., Эмануэль В.Л. К вопросу об актуальности молекулярно-генетической диагностики  $\beta$ -талассемии в Российской Федерации. Российский журнал детской

