

«УТВЕРЖДАЮ»

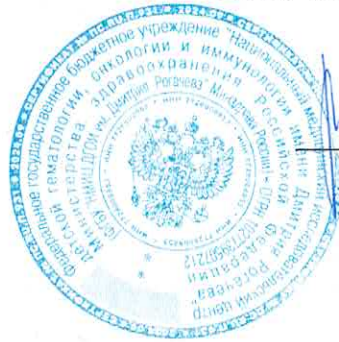
Заместитель генерального директора по науке
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»

Минздрава России

д.м.н., доцент

М.А. Масчан

17 января 2025 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейrogenных опухолях у детей»

Диссертационное исследование Друя Александра Евгеньевича «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейrogenных опухолях у детей» выполнено в лаборатории молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Друй А.Е. в 2010 году с отличием окончил Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по специальности «Лечебное дело».

Соискатель Друй А.Е. в настоящее время работает в должности заведующего лабораторией молекулярной онкологии, доцента кафедры клинической лабораторной диагностики и трансфузиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

Решением диссертационного совета, созданного на базе Научно-исследовательского института онкологии имени Н.Н. Петрова 19 мая 2015 г. Друю А.Е. присуждена ученая степень кандидата медицинских наук (диплом КНД № 012829).

Научные консультанты – Качанов Денис Юрьевич, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение клинической онкологии, заведующий отделением.

Новичкова Галина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный руководитель Центра.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования

Периферические нейrogenные эмбриональные опухоли составляют до 10% в структуре онкологической заболеваемости детей и подростков с частотой выявления 11-13 случаев на 1 млн человек детского населения и, в большинстве случаев, представлены нейробластомой, которая вносит непропорционально высокий вклад в онкологическую смертность. Клиническая гетерогенность данных опухолей определяется молекулярно-генетическими абберациями, лежащими в основе их патогенеза. При этом, валидированные клинические и молекулярные факторы риска не могут объяснить все случаи неблагоприятного течения заболевания и остро нуждаются в расширении. Высокопроизводительные молекулярно-генетические технологии позволяют выявлять одновременно большое количество биомаркеров, как прогностических, так и предиктивных. Анализ последних наиболее актуален для пациентов группы высокого риска, где интенсификация терапии за счет иммунотерапевтических подходов и молекулярно-направленной терапии наиболее обоснована. Кроме того, тенденция развития современной онкологии направлена на получение исчерпывающей информации об опухоли, включая ее биологические свойства, при минимальной инвазивности процедуры. Это делает установление взаимосвязи между геномными характеристиками опухоли и ее фенотипом, исследованным с помощью количественных данных визуализационных технологий, перспективным направлением исследования. Все это определяет актуальность темы диссертационного исследования, его теоретическую и практическую значимость, а также правильность поставленной цели и задач исследования.

**Личное участие автора в получении результатов,
изложенных в диссертации**

Автор принимал участие в постановке цели и задач исследования. Им изучен и проанализирован литературный материал, описывающий молекулярные свойства нейрогенных опухолей, выполнены лабораторные исследования, направленные на изучение экспрессии белок-кодирующих генов, микро-РНК, а также анализ взаимодействия клеток опухоли с иммунным микроокружением. Диссертант принимал участие в проведении NGS и интерпретации данных, а также их коллегиальном обсуждении на междисциплинарном «молекулярном» консилиуме с решением вопроса о назначении таргетной терапии. Автор участвовал в сопоставлении данных молекулярно-генетических технологий с результатами морфологического исследования и количественной МРТ. Диссертантом осуществлён расчёт и статистический анализ количественных параметров, лежащих в основе работы. Автор участвовал в апробации результатов исследования на форумах всероссийского и международного уровня и опубликовал основные результаты исследования в рецензируемых научных изданиях (36), в том числе журналах, включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России (19).

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность научных результатов подтверждается глубоким анализом литературных источников, использованием современных молекулярно-генетических, морфологических, иммуногистохимических и визуализационных методов исследования, а также биоинформатических и статистических инструментов для обработки данных; значительным количеством пациентов, вошедших в исследование (534 уникальных пациента). Для решения поставленных задач использовались образцы пациентов группы сравнения в количестве 82.

Новизна и практическая значимость исследования

Заключается в разработке оригинальной мультигенной экспрессионной панели, позволяющей прогнозировать клиническое течение НБ; демонстрации негативного прогностического значения глобальной дисрегуляции микроРНК в клетках НБ и потери экспрессии онкосупрессорной микроРНК miR-128-3p в сочетании с гиперэкспрессией гена *TERT*. Впервые была показана различная иммуногенность нейрогенных опухолей и ингибирование специфической цитотоксичности за счет экспрессии генов *PDCD1* (*PDI*) и *CTLA4*, белковые продукты которых могут выступать в качестве мишеней для фармакологического воздействия. Также впервые были продемонстрированы идентичные молекулярные механизмы созревания НБ и центральных нейрогенных опухолей. Было определено пороговое значение возраста манифестации НБ – 6,58 лет, связанное с более

частым обнаружением aberrаций гена *ATRX* и переходом к индолентным, прогрессирующим формам НБ. Впервые в РФ продемонстрирована эффективность применения ингибиторов ALK, назначенных на основании выявления активирующих мутаций в гене *ALK* с помощью высокопроизводительного секвенирования ДНК. Определён пороговый уровень измеряемого коэффициента диффузии опухоли, позволяющий дифференцировать случаи НБ с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN* на основании данных количественной МРТ.

Ценность научной работы соискателя

Заключается в том, что в диссертационной работе представлен всесторонний анализ молекулярно-биологических характеристик нейrogenных эмбриональных опухолей у детей, включая анализ aberrаций экспрессии белок-кодирующих генов и регуляторных РНК, нуклеотидных вариантов, аномалий количества копий генов и хромосомных регионов. Установлены генотип-фенотипические корреляции между прогностически-значимыми молекулярными маркерами и свойствами опухоли, выявляемыми на основании данных количественной МРТ. Фундаментальное значение работы заключается в выявлении двух типов НБ, принципиально различающихся по степени взаимодействия с реактивным микроокружением и иммунной инфильтрации. Было показано, что в реализации противоопухолевого иммунного ответа задействованы как клеточное, так и гуморальное звенья иммунитета, а также NK-клетки. В составе микроокружения были обнаружены элементы, экспрессирующие мРНК генов *PDCD1* и *CTLA4*, что свидетельствует о торможении цитотоксического иммунного ответа и указывает на потенциальную пользу использования ингибиторов контрольных точек иммунного ответа у данных пациентов. Кроме того, в исследовании было продемонстрировано, что молекулярные механизмы созревания нейrogenных опухолей идентичны для опухолей интра- и экстракраниальной локализации. Опухоли, подвергшиеся созреванию, имеют конститутивную активацию сигнальных путей RAS-RAF-MEK и PI3K-AKT-mTOR. При созревании нейробластомы у пациентов в возрасте младше 18 мес. преобладает *NTRK1*-зависимое сигнализирование, а среди больных НБ старше 18 мес. – изменение активности транскрипционных факторов и эпигенетических модификаторов. При созревании опухолей ЦНС задействованы оба механизма.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 36 научных работ, из них 18 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований. В работах в достаточном объеме отражены результаты проведенного исследования, обсуждаемые на всероссийских и международных научно-практических конференциях и симпозиумах.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. **Друй А.**, Ясько Л., Коновалов Д., Эктова А., Валиахметова Э., Ольшанская Ю.В., Масчан А., Новичкова Г., Папуша Л. Определение молекулярно-генетических подгрупп медуллобластомы на основании анализа уровня экспрессии генов. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2017;16(4):85-89.
2. Андреева Н.А., **Друй А.Е.**, Шаманская Т.В., Качанов Д.Ю., Варфоломеева С.Р. ALK и нейробластома: от молекулярной генетики до клиники. Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2019;6(2):54-60.
3. Друй, А., Кулева, С. Иммунотерапия нейробластомы. Вопросы онкологии. 2019;65(2), 181–187.
4. Андреева Н.А., Качанов Д.Ю., Ильина Е.Ю., Щербаков А.П., Терещенко Г.В., Ликарь Ю.Н., **Друй А.Е.**, Рошин В.Ю., Ядгаров М.Я., Шаманская Т.В. Билатеральная адrenaльная нейробластома: клиническая картина, подходы к диагностике, терапии и результаты лечения. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020;19(4).
5. Бабаханова С.Б., Качанов Д.Ю., Щербаков А.П., Рошин В.Ю., **Друй А.Е.**, Ликарь Ю.Н., Шаманская Т.В. Ганглионейрома как феномен дозревания нейробластомы. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020;19(4):133-142.
6. Чернышева О.О., **Друй А.Е.**, Качанов Д.Ю., Шаманская Т.В. Основные генетические нарушения в патогенезе нейробластомы. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021;20(4):178-184.
7. Спектор М.А., Ясько Л.А., **Друй А.Е.** Интерпретация соматических генетических вариантов, выявленных методом высокопроизводительного секвенирования опухолевой ДНК, на примере онкологических заболеваний детского возраста. Медицинская генетика. 2021;20(3):3-25.
8. Тесаков И.П., Мартьянов А.А., Друй А.Е., Свешникова А.Н. Анализ тромбоцитарной РНК: неинвазивный метод изучения экспрессии опухолевых генов. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021;20(1):207-217
9. Андреева Н.А., Шаманская Т.В., Качанов Д.Ю., Ясько Л.А., Курникова М.А., Абасов Р.Х., **Друй А.Е.** Герминальные и соматические генетические варианты NF1 при

нейробластоме: собственный опыт и обзор литературы. Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2022;9(2):29-38.

10. Андреева Н.А., Шаманская Т.В., Гегелия Н.В., Абасов Р.Х., Усман Н.Ю., Качанов Д.Ю., **Друй А.Е.** Сравнительный анализ генетического профиля нейробластомы в дебюте, рецидиве или прогрессии заболевания и определение прогностической роли генетических изменений. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022;21(4):18-30.

11. Саломатина А.С., Качанов Д.Ю., Изотова О.Ю., Пухова А.А., Лопатина В.А., Терещенко Г.В., Коновалов Д.М., Рощин В.Ю., **Друй А.Е.**, Андреева Н.А., Уталиева Д.Т., Ликарь Ю.Н., Рабаев Г.С., Варфоломеева С.Р., Шаманская Т.В. Врожденная нейробластома: обзор литературы и собственный опыт НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева по пренатальной диагностике, клиническому течению и тактике ведения пациентов. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2022;101(№ 3):122-133.

12. Тараканова А.В., Шарлай А.С., Друй А.Е., Коновалов Д.М. Нейробластомы очень высокого прогностического риска: гистологические, иммунофенотипические и генетические характеристики. Обзор литературы и собственные наблюдения. Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2023;10(3):63-69.

13. Шаманская Т.В., Варфоломеева С.Р., Качанов Д.Ю., Моисеенко Р.А., Телешова М.В., Коновалов Д.М., Рощин В.Ю., Казакова А.Н., Земцова Л.В., **Друй А.Е.**, Ядгаров М.Я., Терещенко Г.В., Щербаков А.П., Ликарь Ю.Н., Сухов М.Н., Грачев Н.С., Ахаладзе Д.Г., Масчан М.А., Нечеснюк А.В., Пшонкин А.В., Курникова Е.Е., Скоробогатова Е.В., Хачатрян Л.А., Фомин Д.К., Масчан А.А., Румянцев А.Г., Новичкова Г.А. Результаты терапии пациентов с нейробластомой группы высокого риска: опыт НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023;22(2):65-91.

14. Шарлай А.С., Гегелия Н.В., Друй А.Е., Коновалов Д.М. Злокачественная строма? Альтернативная локализация классических генетических aberrаций в нейробластоме. Архив патологии. 2023;85(4):47-53.

15. Андреева Н.А., Шаманская Т.В., Качанов Д.Ю., Абасов Р.Х., Гегелия Н.В., Друй А.Е. Молекулярно-генетические особенности нейробластомы у пациентов подросткового возраста. Успехи молекулярной онкологии. 2024;11(2):106-115.

16. Уталиева Д.Т., Качанов Д.Ю., Ядгаров М.Я., Саломатина А.С., Друй А.Е., Грачев Н.С., Моисеенко Р.А., Бабаскина Н.В., Новичкова Г.А., Шаманская Т.В. Вторичные злокачественные опухоли у пациентов после терапии нейробластомы: опыт

одного Центра. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2024;23(3):59-67.

17. Зверев И.А., Друй А.Е. Возможные механизмы созревания нейрогенных опухолей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2024;23(3):176-197.

18. Терещенко Г.В., Лопатина В.А., Земцова Л.В., Коновалов Д.М., Андреева Н.А., Шаманская Т.В., Новичкова Г.А., Качанов Д.Ю., Друй А.Е. Радиогеномика нейрогенных опухолей у детей: ретроспективное исследование. Лучевая диагностика и терапия. 2024;15(2):25-34.

Публикации в индексируемых иностранных изданиях:

1. **Alexander Druy**, Grigory Tsaur, Egor Shorikov, Artem Zaychikov, Yulia Olshanskaya, Leonid Saveliev, Larisa Fechina. Lack of micro-RNA 128A expression as a novel prognostic marker in neuroblastoma patients and combination with TERT hyperexpression to define patient outcomes. *Journal of Clinical Oncology*. 2017; 35(15_suppl): P. e22014.

2. **Druy, A. E.**, Shorikov, E. V., Tsaur, G. A., Popov, A. M., Zaychikov, A. N., Tuponogov, S. N., Saveliev, L. I., Tytgat, G. A. M., Fechina, L. G. Prospective investigation of applicability and the prognostic significance of bone marrow involvement in patients with neuroblastoma detected by quantitative reverse transcription PCR. *Pediatric blood & cancer*. 2018; 65(11): P. e27354.

3. **A. Druy**, L. Yasko, Y. Olshanskaya, T. Shamanskaya, D. Kachanov, S. Varfolomeeva, A. Rumyantsev. Expression Signature Developed on Consensus Gene List Predicts Outcome in Patients with Neuroblastoma Independently from Clinical Risk Group. *Pediatr Blood Cancer*. 2018; 65(Suppl 2): P. e27455.

4. T. Shamanskaya, D. Kachanov, L. Hachatryan, R. Khismatullina, R. Moiseenko, M. Teleshova, E. Skorobogatova, **A. Druy**, L. Zemcova, E. Kurnikova, G. Tereschenko, A. Nechesnyuk, D. Akhaladze, D. Fomin, D. Konovalov, N. Grachev, Y. Likar, M. Maschan, S. Varfolomeeva, G. Novichkova. Results of High-Dose Treosulfan-Containing Regimen in Patients With High-Risk Neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2020; 67(S4): P. e28742.

5. N. Andreeva, D. Kachanov, A. Scherbakov, L. Zemcova, **A. Druy**, Y. Likar, K. Kailash, D. Utalieva, V. Roshchin, E. Ilyina, T. Shamanskaya. Bilateral Adrenal Neuroblastoma: Clinical and Biological Characteristics. *Pediatr Blood Cancer*. 2020; 67(S4): P. e28742.

6. **Druy, A. E.**, Tsaur, G. A., Shorikov, E. V., Tytgat, G. A. M., Fechina, L. G. Suppressed miR-128-3p combined with TERT overexpression predicts dismal outcomes for neuroblastoma. *Cancer biomarkers: section A of Disease markers*. 2022; 34(4): P. 661–671.

7. Andreeva, N., Usman, N., **Druy, A.** MicroRNAs as prospective biomarkers, therapeutic targets and pharmaceuticals in neuroblastoma. *Molecular biology reports*. 2023; 50(2): P. 1895–1912.

Специальности, которым соответствует диссертация

Диссертационное исследование 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».

Диссертация Друя Александра Евгеньевича «Идентификация и неинвазивная диагностика молекулярно-генетических aberrаций при периферических эмбриональных нейrogenных опухолях у детей» рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия, 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика. Заключение принято на совместном расширенном заседании экспертной комиссии по направлениям «Онкология» и «Фундаментальная медицина и лабораторная диагностика» федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Присутствовало на заседании 29 человек, в т. ч. докторов наук по рассматриваемым специальностям 10 человек.

Результаты голосования: «за» 29 чел., «против» нет, «воздержались» нет, протокол № 1 от «15» января 2025 г.

Председатель заседания

Заместитель главного врача по лечебной работе ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Д.Рогачева Минздрава России, д.м.н.,

Н.В. Мякова

Подпись Н.В. Мяковой заверяю,

Ученый секретарь ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Д.Рогачева Минздрава России, д.м.н.,



Д.С. Блинов