

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**доктора биологических наук, заведующего лабораторией эпигенетики
ФГБНУ «МГНЦ» Стрельникова Владимира Викторовича на
диссертационную работу Поповой Анны Сергеевны
«Возможности прогнозирования течения и индивидуализации терапии рака
поджелудочной железы на основании молекулярно-генетических
характеристик опухоли», представленную на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 — Онкология**

Актуальность темы исследования

Одним из ведущих направлений развития современной онкологии является персонализация лечения на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли. Поиск новых прогностических и предиктивных маркеров имеет особое значение для таких химиорезистентных опухолей как рак поджелудочной железы. В последние годы продолжает наблюдаться тенденция к росту заболеваемости раком поджелудочной железы, при этом среднероссийский показатель диагностирования на IV стадии заболевания составил 59,5%, что является максимальным показателем среди злокачественных новообразований. Во многом это связано с отсутствием симптоматики на ранних стадиях заболевания, высокочувствительных и специфичных маркеров и скрининговых тестов. По данным зарубежной литературы рак поджелудочной железы можно разделить на несколько молекулярных подтипов, для одного из которых характерен дефицит гомологичной рекомбинации. Однако, известно, что популяции пациентов могут различаться между собой по частоте и паттерну патогенных мутаций. Помимо этого, рак поджелудочной железы является гетерогенным заболеванием, однако, выполнение биопсии и забора адекватного материала для выполнения генетического тестирования первичной опухоли и метастазов зачастую затруднено по различным техническим причинам. В связи с этим метод «жидкостной биопсии» особенно интересен при данном заболевании.

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

В диссертационной работе представлены результаты научного исследования молекулярно-генетических характеристик рака поджелудочной железы с применением современных методов молекулярной диагностики, включившее 692 российских пациентов. Достаточный период наблюдения и верная статистическая обработка данных позволили автору сделать ценные выводы, как с точки зрения практической медицины, так и теоретической науки. Научная новизна представленной работы состоит в изучении и решении актуальной задачи персонализации терапии онкологических заболеваний. В исследовании представлена не только частота патогенных мутаций в генах гомологичной рекомбинации ДНК в российской популяции больных раком поджелудочной железы, но также влияние их на выживаемость в зависимости от схем химиотерапии, полученных пациентами. Применение платиносодержащих схем химиотерапии в первой линии лечения при наличии мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *PALB2* достоверно снижало риск смерти. Помимо этого автором была доказана недостаточная информативность тест-систем ПЦР-диагностики и факторов риска, характерных для наследственного рака молочной железы и яичников, таких как наличие *BRCA*-ассоциированных опухолей в семейном анамнезе и возраст пациента. В конце работы автором представлены практические рекомендации, говорящие о необходимости генетического тестирования всех больных раком поджелудочной железы на наличие мутаций в генах независимо от стадии заболевания, возраста пациента и отягощенности семейного анамнеза.

Другая немаловажная часть работы была посвящена определению циркулирующей опухолевой ДНК в крови пациентов с резектабельным и распространенным раком поджелудочной железы. Данный метод активно изучается при других злокачественных новообразованиях в связи с его очевидными преимуществами перед инвазивными методами диагностики. Тщательная проработка имеющихся данных литературы, посвященных проблеме

циркулирующей опухолевой ДНК при раке поджелудочной железы, позволили автору выполнить полноценный мета-анализ и обзор литературы, обосновывающие целесообразность дальнейшего изучения данного вопроса. Автором впервые в России показана прогностическая значимость циркулирующей опухолевой ДНК в плазме пациентов с резектабельным процессом, а также связь концентрации выявленной циркулирующей опухолевой ДНК с распространенностью процесса. Чувствительность разработанной тест-системы для выявления циркулирующей опухолевой ДНК на основании мутаций, характерных для рака поджелудочной железы, составила 64,4%. Автор делает выводы о необходимости изучения данного метода на большей выборке пациентов с оценкой циркулирующей опухолевой ДНК при повторных заборах крови в течение противоопухолевой терапии.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа Поповой Анны Сергеевны состоит из введения, четырех глав, включающих обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, а также из выводов и списка литературы, включающего 165 публикаций, из них 5 – российских авторов. Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 рисунками и 11 таблицами и написана грамотным научным языком.

Во введении автор освещает актуальность проблемы, опираясь на данные отечественной и зарубежной литературы, определяет цель и задачи исследования, а также теоретическую и практическую значимость работы. Кратко представлена методология диссертационного исследования и степень достоверности результатов.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором описана роль системы гомологичной рекомбинации ДНК при раке поджелудочной железы, проанализирована частота встречаемости как герминальных, так и соматических мутаций в генах системы гомологичной рекомбинации ДНК по данным различных

авторов. В частности, в последнем разделе представлены результаты коллектива авторов, изучавших гены гомологичной рекомбинации ДНК с помощью ПЦР-диагностики среди 150 пациентов, проживающих в Санкт-Петербурге и Ленинградской области. Подробно проведен анализ результатов работ, оценивающих практическую значимость дефицита гомологичной рекомбинации при раке поджелудочной железы с акцентом на эффективность препаратов платины и PARP-ингибиторов при данной патологии. Отдельный раздел посвящен фактором риска наличия мутаций в генах гомологичной рекомбинации и целесообразности генетического консультирования при раке поджелудочной железы. Далее автор приводит историческую справку об эволюции метода «жидкостной биопсии», а также сравнивает результаты определения циркулирующей опухолевой ДНК различными методами диагностики: от ПЦР-анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов до капельной цифровой ПЦР и секвенирования нового поколения. Обсуждается влияние циркулирующей опухолевой ДНК на прогноз пациентов до операции, после нее и в процессе лекарственного лечения.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования, в том числе определение дизайна и конечных точек исследования. Подробно описан процесс формирования базы данных о пациентах, включенных в исследование, а также коллекции морфологического материала для генетического анализа. Часть исследования, посвященная изучению генов гомологичной рекомбинации ДНК, проведена для 626 пациентов; автором последовательно описан процесс проведения высокопроизводительного секвенирования ДНК. В данной главе также представлена методология мета-анализа исследований, посвященных прогностической значимости определения циркулирующей опухолевой ДНК в крови пациентов с раком поджелудочной железы.

Третья глава диссертационной работы посвящена результатам собственного исследования. Глава иллюстрирована достаточным количеством таблиц и рисунков. По результатам полноэкзомного секвенирования 20 генов гомологичной

рекомбинации ДНК патогенные мутации были выявлены в 12% случаев, при этом практически половина из них пришлась на мутации в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *PALB2*. Автором обосновано разделение пациентов на подгруппы с мутациями в вышеперечисленных генах, с мутациями в других генах гомологичной рекомбинации и с диким типом генов. Подробно представлены сравнительные клиничко-морфологические характеристики пациентов, как с резектабельным, так и с распространенным раком поджелудочной железы. Длительность периода наблюдения и ведение базы данных, включавшей все аспекты лечения и анамнеза пациентов, позволили автору провести сравнительный анализ выживаемости пациентов в зависимости от проводимого лечения. Так, в случае резектабельного процесса наличие мутаций достоверно не влияло на выживаемость пациентов. В свою очередь, при местно-распространенном и метастатическом процессе, наличие мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *PALB2* коррелировало с более высокой эффективностью препаратов платины. По результатам многофакторного регрессионного анализа было показано, что только наличие метакронной *BRCA*-ассоциированной опухоли у пациента является независимым предиктором риска носительства мутации в генах *BRCA1/2* или *PALB2* в отличие от возраста менее 55 лет. Однако, при отсутствии метакронных опухолей в анамнезе доля пациентов с мутациями *BRCA1/2* или *PALB2* составила почти 5%. Вторая часть данной главы отведена результатам мета-анализа исследований, посвященных определению циркулирующей опухолевой ДНК в крови пациентов с раком поджелудочной железы. Методы статистического анализа и полнота проанализированных публикаций делают результаты мета-анализа достоверными и убедительными. Наличие циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови как при локальном, так и при распространенном процессе, являлось негативным прогностическим фактором в проанализированных исследованиях. Далее автор доказывает выводы мета-анализа на примере пациентов с резектабельным процессом, кровь которых забиралась для анализа до и после операции. Согласно оценке выживаемости пациентов только наличие циркулирующей опухолевой ДНК после операции

сказалось на худшей выживаемости без признаков заболевания по сравнению с группой, у которых циркулирующая опухолевая ДНК не определялась в крови после операции. У 50% пациентов с наличием циркулирующей опухолевой ДНК и у 13% пациентов с ее отсутствием в плазме крови после операции зарегистрировано прогрессирование заболевания ($p=0,02$), что сказалось на показателе выживаемости без признаков заболевания ($OR=2,9$, 95% ДИ 1,01-8,5, $p=0,04$), но не на показателе общей выживаемости ($OR=1,2$, 95% ДИ 0,2-6,6, $p=0,8$). 6-месячная выживаемость без признаков заболевания в группе наличия циркулирующей опухолевой ДНК после операции составила 66%, в группе с негативным статусом циркулирующей ДНК – 91%.

В главе «Обсуждение» автор детально анализирует полученные результаты и сравнивает их с данными других авторов, обоснованно указывает на преимущества и недостатки проведенного исследования, а также дает практические рекомендации по внедрению полученных результатов в повседневную клиническую практику, а также по дальнейшему изучению молекулярно-генетических характеристик рака поджелудочной железы. Сделанные автором выводы полностью соответствуют поставленным задачам. Принципиальных замечаний к выполненной работе, оформлению текста диссертации и автореферата не имею.

Заключение

Диссертационная работа Поповой Анны Сергеевны «Возможности прогнозирования течения и индивидуализации терапии рака поджелудочной железы на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной и практической задачи персонализации терапии больных раком поджелудочной железы. Новизна, объем, высокий методический уровень проведенного исследования и значимость полученных результатов говорят о том, что диссертационная 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 искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Заведующий лабораторией эпигенетики
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»,

доктор биологических наук, доцент
(03.02.07 – Генетика)

Стрельников Владимир Викторович

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в
диссертационный совет Д 001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.
Блохина» Минздрава России

09.03.2022

Подпись д.б.н. Стрельникова В.В. заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
кандидат медицинских наук



Воронина Екатерина Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный
центр имени академика Н.П. Бочкова»

Адрес: 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел. +7(499) 612-86-07

E-mail: mgnc@med-gen.ru