

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ онкологии»
Минздрава России,
Академик РАН, д.м.н., профессор


Кит О.И.

«27» июля 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация на тему «Биологическая роль и прогностическая значимость клеточных и молекулярных характеристик рака ободочной кишки» выполнена Новиковой Инной Арнольдовной в лаборатории иммунофенотипирования опухолей и лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Новикова Инна Арнольдовна работала заместителем генерального директора по науке в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России.

Новикова Инна Арнольдовна в 1997г. окончила педиатрический факультет Ростовского государственного медицинского университета. С 1999г. по 2001г. обучалась в ординатуре по специальности «Онкология» на базе Ростовского научно-исследовательского онкологического института. В 2001г. принята на должность врача патологоанатома в патологоанатомическое отделение ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. В 2006 г. защитила кандидатскую диссертацию на тему «Некоторые молекулярно-биологические особенности рака молочной железы» по специальности 14.01.12 –онкология. С февраля 2014 г. по сентябрь 2017 г. - руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. С октября 2017 г. по октябрь 2018г. работала в должности ведущего научного сотрудника лаборатории клеточной иммунологии и иммуногенеза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. С октября 2018г. по настоящее время работает в должности заместителя генерального директора по науке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Научный консультант – Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант – Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

По итогам обсуждения диссертации Новиковой Инны Арнольдовны «Биологическая роль и прогностическая значимость клеточных и молекулярных характеристик рака ободочной кишки» принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования

Колоректальный рак (КРР) является третьим по распространенности онкологическим заболеванием в мире и второй по частоте причиной смерти от него (Siegel R.L. et al., 2016; Siegel R.L. et al., 2017; Bray F. et al., 2018; Brenner H. et al., 2018; Akimoto N. et al., 2021). 5-летняя общая выживаемость при КРР составляет около 50% (O'Connell J.B. et al., 2004; Wang W. et al., 2019). 20% новых случаев КРР являются метастатическими (Chiorean E.G. et al., 2020). У 50% пациентов с ранней стадией заболевания в конечном итоге развиваются метастазы, 80–90% которых из-за размера, локализации и/или степени распространения являются неоперабельными (Van Cutsem E., Oliveira J., 2009; Atreya S.E. et al., 2017; Hervieu C. et al., 2021).

Прогнозирование течения КРР в основном зависит от TNM стадирования, гистопатологических критериев и степени дифференцировки опухолевых клеток (Pagès F. et al., 2018; Wang X. et al., 2020). Однако биологическое поведение опухоли не всегда может быть определено с использованием этих критериев, что диктует необходимость проведения исследований, направленных на поиск дополнительных маркеров опухолевой прогрессии.

Во многих случаях метастазирование начинается на ранней стадии опухолевого процесса, а увеличение размеров первичной опухоли не связано с метастазированием (Harper K.L. et al., 2016; Hosseini H. et al., 2016). Ключевой предпосылкой для образования метастазов является диссеминация циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в кровотоке (Bahnassy A.A. et al., 2019; Chong W. et al., 2021; Hendricks A. et al., 2021). Опухолевые клетки на разных стадиях метастатического процесса сосуществуют и взаимодействуют с различными компонентами микроокружения, включая фибробласты, иммуно-воспалительные и эндотелиальные клетки (Acharyya S., Massague J., 2016; Wang M. et al., 2017; Zhuang X. et al., 2019).

Неблагоприятное течение заболевания связано с небольшой популяцией клеток с высокой степенью онкогенности – опухолевыми стволовыми клетками (ОСК) (Nurgali K. et al., 2018). Было показано, что ОСК вызывают инициирование роста опухоли, развитие рецидива и метастазов (Batlle E. et al., 2017; Walcher L. et al., 2020; Hervieu C. et al., 2021).

Опухолевое микроокружение является ключевым фактором роста и развития опухоли, а также важным регулятором фенотипа ОСК (Binnewies M. et al., 2018; Zhao Y. et al., 2018; Wang X., 2020).

Молекулярная информация об опухолях с использованием методов жидкостной биопсии на основе ЦОК и микроРНК может быть использована для раннего выявления рака, оценки риска метастатического прогрессирования или рецидивирования, оценки чувствительности к противоопухолевым агентам, мониторингу ответа на лечение и определению минимальной остаточной болезни (Cohen J.D. et al., 2018; Yamada T. et al., 2019; Yamada T. et al., 2019; Gao W. et al., 2021).

Изучение молекулярно-генетических характеристик опухоли, включая микроРНК, содержащиеся в опухоли и в ЦОК, а также их гены-мишени, регуляция экспрессии которых реализуется в стимуляции или супрессии онкогенного потенциала опухолевых клеток являются важными для прогнозирования течения заболевания и персонализированного подхода к терапии. Кроме того, клеточная и молекулярная многогранность опухоли и опухолевого микроокружения толстой кишки предполагает возможность разработки множества потенциальных мишеней для терапевтического воздействия, новых алгоритмов стратификации пациентов на группы риска и прогнозирования течения заболевания, что и определило выбор данного направления работы.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Автором лично оценена частота встречаемости циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) у больных раком ободочной кишки в зависимости от различных клиничко-морфологических факторов; проведен анализ показателей врожденного и адаптивного системного иммунитета, сывороточных цитокинов у больных раком ободочной кишки при различном уровне ЦОК; изучена экспрессия маркеров ОСК (CD44, CD133, ALDH1) и ЭМП (ZEB1) в ткани опухоли в зависимости от различных клиничко-морфологических факторов и локального иммунитета; изучен профиль транскрипционной активности микроРНК в опухолевой ткани больных раком ободочной кишки и проведен биоинформационный анализ, а также изучен уровень экспрессии генов-мишеней в опухолевой ткани

больных раком ободочной кишки; разработаны математические модели неблагоприятного исхода заболевания с учетом клеточных и молекулярных характеристик опухоли и ее микроокружения у больных раком ободочной кишки.

Клинический материал, включая истории болезни, данные клинико-лабораторных исследований, анализировался автором лично. Полученные результаты подверглись статистической обработке и научному анализу, что позволило автору сделать объективные выводы и дать практические рекомендации. Опубликованные научные работы подтверждают личное участие автора в выполнении исследования.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне. Достоверность научных положений и выводов диссертационной работы подтверждается результатами анализа клинического и лабораторного материала, методами диагностики и лечения, данными статистической обработки полученных результатов. В работе использовались современные клинико-лабораторные методы исследования.

Проведена статистическая обработка данных с определением достоверности полученных результатов, на основе чего сделаны обоснованные выводы и предложены практические рекомендации.

Научная новизна проведенных исследований

В диссертационной работе впервые:

- было проведено комплексное многоуровневое исследование биологической роли и клинической значимости ЦОК и ОСК, опухолевой ткани при раке ободочной кишки, суммирующее их молекулярно-генетические характеристики, включающие микроРНК, их гены-мишени и сигнальные пути, взаимовлияние ЦОК и ОСК на факторы системного и локального иммунитета и эпителиально-мезенхимального перехода, их оценка в связи с клинико-морфологическими особенностями и течением заболевания.

- дана комплексная оценка экспрессии микроРНК и их генов-мишеней у больных II-IV стадиями раком ободочной кишки и охарактеризована их прогностическая значимость для клинического исхода заболевания: с развитием летального исхода связано 14 генов – повышение экспрессии 11 протоонкогенов (*MMP2*, *CD44*, *SPP1*, *FN1*, *COL1A2*, *SPARC*, *CTNNB1*, *NANOG*, *MYC*, *OCT4*, *NFKB*) и снижение транскрипционной активности трех онкосупрессоров (*GSK3B*, *SUFU* и *APC*).

- изучен профиль экспрессии микроРНК в ЦОК и выявлены его различия для hsa-miR-26a-5p по сравнению с клетками опухоли; показано, что оценка

уровня экспрессии hsa-miR-26a-5p в опухоли и в ЦОК позволяет дифференцировать опухоли с наличием и отсутствием метастазов.

- У больных раком ободочной кишки при наличии ЦОК вне зависимости от стадии впервые установлены изменения, свидетельствующие об угнетении противоопухолевых свойств врожденного и адаптивного иммунитета, в НК-клеточном, моноцитарно-макрофагальном и Т-лимфоцитарном звеньях, а также цитокиновый дисбаланс.

- показано различное влияние опухолевых клеток с экспрессией разных рецепторов ОСК на иммунологическое микроокружение опухоли при раке ободочной кишки и установлена наибольшая значимость ОСК, коэкспрессирующих CD44+CD133+ рецепторы, для развития локальной иммуносупрессии в виде повышения уровня Tregs и PD-1+ лимфоцитов, снижения уровня CD4+ и НК-клеток, а также опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-ABC; в развитие таких изменений больший вклад вносит экспрессия CD44, чем CD133.

- выявлено, что из 12 изученных клинико-морфологических характеристик опухоли наиболее часто статистически значимая связь наблюдалась с экспрессией в опухоли CD44 (по 10 параметрам).

- показана статистически значимая связь экспрессии в опухолевой ткани маркеров ОСК и ЭМП и количеством ЦОК в периферической крови.

- на основании проведенного анализа ЦОК, ОСК и маркеров ЭМП в опухоли, а также ряда микроРНК и факторов системного и локального иммунитета и клиническим течением заболевания впервые разработаны прогностические алгоритмы риска летального исхода и метастазирования рака ободочной кишки.

Практическая значимость проведенных исследований

Практическая значимость работы заключается в том, что на основании полученных результатов разработан ряд прогностических алгоритмов, объединенных в четыре математические модели, позволяющих оценить риск летального исхода и метастазирования у больных раком ободочной кишки после операции, выполненной первым этапом лечения.

Разработан способ прогнозирования метастазирования при раке ободочной кишки III стадии, заключающийся в том, при наличии мутации гена *KRAS* и содержании ЦОК более 5 прогнозируют метастазирование в 100% случаев в течение 18-24 месяцев (Пат. 2613142 Российская Федерация, МПК G01N. Способ прогнозирования метастазирования при раке ободочной кишки [текст] / Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Шу-

ликов П.Б.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. (RU). - № 2015150450; заявл. 24.11.2015; опубл. 15.03.2017, Бюл. №8. – 8 с.)

Разработан способ прогнозирования риска неблагоприятного исхода рака ободочной кишки и ректосигмоидного отдела, включающий исследование уровня ЦОК в периферической крови до оперативного вмешательства и отличающийся тем, что в ткани опухоли определяют процент опухолевых клеток, экспрессирующих CD44, с помощью логистической регрессионной модели рассчитывают коэффициент прогноза летального исхода (К), при значениях которого выше 0,411 прогнозируют высокий риск летального исхода (Пат. 2772207 Российская Федерация, МПК G01N. Способ прогнозирования риска неблагоприятного исхода рака ободочной кишки и ректосигмоидного отдела [текст] / Кит О.И., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Демидова А.А.; заявитель и патентообладатель Национальный медицинский исследовательский центр онкологии. (RU). - № 2021130402; заявл. 19.10.2021; опубл. 18.05.2022, Бюл. №14. – 9 с.: илл.).

Стратификация больных по содержанию ЦОК и ОСК с учетом состояния их системного и локального иммунитета может быть использована в дальнейшем для уточнения показаний к проведению иммунотерапии ИКТ.

Ценность научных работ соискателя. Полнота изложенных материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По теме диссертации опубликовано 48 печатных работ, из них 13 - в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 5 – в журналах, входящих в международные научные базы цитирования, получено 2 патента на изобретение Российской Федерации.

Основные результаты исследования представлены на научных конференциях и съездах: Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO Annual Meeting) (May 30 – June 03, 2014; May 29-June 2, 2015; June 2-6, 2017; June 1-5, 2018; May 29-31, 2020; June 3-7, 2021), XIX Российском онкологическом конгрессе (17-19 ноября 2015 г., г. Москва), Петербургском онкологическом форуме «Белые ночи-2015» (8–10 июня 2015 г., г. Санкт-Петербург), Втором Онкологическом форуме Юга России, посвященном 85-летию РНИОИ (31.10-01.11.2016 г., г. Ростов-на-Дону), IX Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (15-17 июня 2016 г., г. Минск), II Петербургском Онкологическом форуме «Белые ночи» (22–24 июня 2016 г., г. Санкт-Петербург), XX Рос-

сийском онкологическом конгрессе (15-17 ноября 2016 г., г. Москва), III Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи» (23-25 июня 2017 г., г. Санкт-Петербург), XXI Российском онкологическом конгрессе (14-16 ноября 2017 г., г. Москва), IV Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи 2018» (5-8 июля 2018, г. Санкт-Петербург), X Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии памяти акад. Н.Н. Трапезникова (23-25 апреля 2018, г. Сочи), European Society For Medical Oncology (ESMO) (27 сентября – 1 октября 2019, г. Барселона, Испания), V Петербургском Международном онкологическом форуме «Белые ночи- 2019» (20-23 июня 2019, г. Санкт-Петербург), XI Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (23-25 апреля 2020, г. Казань), Третьем международном форуме онкологии и радиологии (21-25 сентября 2020, г. Москва), VIII Петербургском Международном онкологическом форуме «Белые ночи- 2022» (27 июня-3 июля 2022, г. Санкт-Петербург).

Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 80%, общим объемом 16 печатных листов. Публикации соискателя имеют научно-практический характер, посвящены разработке подхода к прогнозированию течения рака ободочной кишки на основе комплексного анализа клеточных и молекулярных характеристик опухолевых клеток и их микроокружения.

Наиболее значимые работы, опубликованные по теме диссертации:

1. Колесников В.Е., Кит О.И., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Гранкина А.О., Геворкян Ю.А., Максимов А.Ю. Анализ иммунного статуса больных колоректальным раком после различных вариантов оперативного вмешательства // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6. <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25733> ВАК

2. Кит О.И. Нистратова О.В. Новикова И.А. Водолажский Д.И. Никипелова Е.А. Непомнящая Е.М. Ульянова Е.П. Олейникова Е.Н. Ассоциация между наличием KRAS-мутаций в опухоли и количеством циркулирующих опухолевых клеток у больных колоректальным раком «Кубанский научный медицинский вестник» №1 (156) 2016 год, стр.70-74

3. Никипелова Е.А., Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю., Новикова И.А. Коло-канцерогенез: онкоиммунология локальных изменений // Злокачественные опухоли. Спецвыпуск 1-2016. № 4 (21). С. 81-86

4. Кит О., Шуликов П., Новикова И., Гранкина А., Колесников В., Геворкян Ю., Солдаткина Н. Циркулирующие опухолевые клетки при колоректальном раке // Врач. 2017. № 5. С. 42-45

5. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Шуликов П.Б., Харагезов Д.А., Ильченко С.А., Дашков А.В., Полуэктов С.И. Некоторые молекулярно-биологические особенности метастатического колоректального рака // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 3; URL:<http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=26362> ВАК

6. Кит О.И., Колесников В.Е., Толмах Р.Е., Новикова И.А., Шульгина О.Г., Комарова Е.Ф., Демидова А.А. Циркулирующие опухолевые клетки и их связь с клинико-морфологическими характеристиками колоректального рака // Казанский медицинский журнал. 2018. Т. 99. № 1. С. 5-9

7 Златник Е.Ю., Кит О.И., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Сагакянц А.Б., Теплякова М.А., Егоров Г.Ю., Чупанов Г.М., Черникова Е.Н. Возможная роль стволовых опухолевых клеток в процессах метастазирования колоректального рака // Современные проблемы науки и образования. 2018. №6 <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28217>

8. Златник Е.Ю., Ситковская А.О., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Сагакянц А.Б. Показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком разных стадий при наличии и отсутствии циркулирующих опухолевых клеток // Сибирский онкологический журнал. 2020. Т. 19. №4. С. 94–98. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-94-98

9. Ситковская А.О., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Ульянова Е.П., Шульгина О.Г., Колесников В.Е., Габричидзе П.Н., Донцов В.А., Мезенцев С.С. Корреляционный анализ показателей локального иммунитета и эпителиально-мезенхимального перехода больных колоректальным раком в зависимости от уровня циркулирующих опухолевых клеток // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 5. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=30107>

10. Новикова И.А., Тимошкина Н.Н., Кутилин Д.С. Дифференциальная экспрессия микроРНК в опухолевых и нормальных тканях толстой кишки // Якутский медицинский журнал. 2020. № 4 (72). С. 74-82 DOI 10.25789/УМЖ.2020.72.19

11. Новикова И.А., Кит О.И. Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода – E-кадгерина и ZEB1 – при колоректальном раке. Исследования и практика в медицине. 2021; 8(2): 23-33. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-2-2> ВАК

12. Златник Е.Ю., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Ульянова Е.П., Ситковская А.О. Характеристика системного и локального иммунитета и стволовых опухолевых клеток у больных колоректальным раком с различной распространенностью, динамикой и прогнозом. Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 1439-1452. DOI: 10.15789/1563-0625-COL-2352

13. Кит О.И., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Демидова А.А., Колесников Е.Н., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Снежко А.В. Общая выживаемость больных раком ободочной кишки с различным уровнем циркулирующих опухолевых клеток и возможности повышения его прогностической значимости. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 32–39. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-32-39 Scopus

14. Пат. 2772207 Российская Федерация, МПК G01N. Способ прогнозирования риска неблагоприятного исхода рака ободочной кишки и ректосигмоидного отдела [текст] / Кит О.И., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Демидова А.А.; заявитель и патентообладатель Национальный медицинский исследовательский центр онкологии. (RU). - № 2021130402; заявл. 19.10.2021; опубл. 18.05.2022, Бюл. №14. – 9 с.: илл.

15. Пат. 2613142 Российская Федерация, МПК G01N. Способ прогнозирования метастазирования при раке ободочной кишки [текст] / Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Шуликов П.Б.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. (RU). - № 2015150450; заявл. 24.11.2015; опубл. 15.03.2017, Бюл. №8. – 8 с.

Доля оригинального текста в диссертации составляет 84,1 % (по показателям системы «Антиплагиат»). Выявленные заимствования связаны преимущественно с корректным цитированием данных других авторов и своих публикаций в соавторстве, описанием методов исследования и специфической терминологией.

Диссертация «Биологическая роль и прогностическая значимость клеточных и молекулярных характеристик рака ободочной кишки» Новиковой Инны Арнольдовны рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия.

Заключение принято на заседании Ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Присутствовали на заседании 42 человека, в том числе членов Ученого совета 30 из 39 членов Ученого совета. Результаты голосования: «за» - 30 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел. Протокол № 19 от 26 июля 2022г.



Дженкова Елена Алексеевна
доктор биол. наук, доцент
ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии»
Минздрава России

Личную подпись Дженковой Е.А. удостоверяю начальник отдела кадров

Н.С. Пивнева 