

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Юдиной Анастасии Сергеевны «Идентификация клинически значимых онкогенных молекулярных нарушений опухолей на основе геномных и транскриптомных данных», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 – “Молекулярная и клеточная биология”

Диссертационная работа Юдиной Анастасии Сергеевны посвящена актуальной и научно значимой проблеме современной молекулярной онкологии, а именно разработке и применению подходов к выявлению клинически значимых онкогенных нарушений опухолей на основе интегрированного анализа данных секвенирования ДНК и РНК, полученных из тканевых и жидкостных биопсий. Актуальность выбранной темы не вызывает сомнений, поскольку развитие персонализированной онкологии напрямую связано с необходимостью повышения точности молекулярного профилирования опухолей, надежного выявления драйверных соматических мутаций, функциональной интерпретации вариантов неопределенной значимости и расширения диагностических возможностей.

Работа имеет выраженный междисциплинарный характер и находится на стыке молекулярной биологии, онкогеномики, биоинформатики, клинической лабораторной диагностики и трансляционной медицины. Особенно важным представляется тот факт, что автор рассматривает не только задачу детекции соматических вариантов как таковую, но и проблему аналитической достоверности результатов при работе с материалами, наиболее часто встречающимися в реальной клинической практике: FFPE-блоками и внеклеточной ДНК плазмы крови. В диссертации справедливо подчеркивается, что артефакты фиксации, деградация нуклеиновых кислот, низкая доля опухолевой ДНК, ошибки секвенирования и сложности картирования коротких прочтений являются критическими факторами, способными влиять на интерпретацию результатов молекулярного профилирования.

Цель диссертационного исследования сформулирована четко и соответствует современным задачам молекулярной онкологии: выявление клинически значимых онкогенных мутаций для широкого спектра онкологических заболеваний на основе интегрированного анализа данных секвенирования ДНК и РНК из тканевых и жидкостных биопсий с целью повышения информативности молекулярного профилирования для выбора таргетных терапий. Поставленные задачи логически вытекают из цели исследования и охватывают ключевые аспекты работы: разработку и валидацию методов анализа FFPE-материала, поиск низкочастотных мутаций в циркулирующей опухолевой ДНК, оценку вклада РНК-секвенирования в интерпретацию соматических событий, а также использование интегрированного подхода для анализа клинически значимых генов.

Структура диссертации является последовательной и обоснованной. Работа включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложение. Обзор литературы демонстрирует хорошее владение автором современным состоянием области: рассмотрены молекулярно-биологические основы канцерогенеза, механизмы действия таргетных терапий, подходы к молекулярной диагностике опухолей, особенности тканевых и жидкостных биопсий, а также ограничения существующих референсных систем для валидации комплексного геномного профилирования. Диссертация изложена на 158 страницах, включает приложение, содержит 59 оригинальных рисунков и 20 таблиц, что свидетельствует о значительном объеме выполненной работы.

Научная новизна диссертационной работы заключается прежде всего в разработке комплексного подхода к интегрированному геномно-транскриптомному профилированию опухолей с учетом особенностей деградированного клинического материала. Автором сформированы референсные наборы соматических мутаций для модельных клеточных линий,

разработаны и валидированы подходы к фильтрации артефактов FFPE-материала, предложены методы детекции низкочастотных вариантов во внеклеточной ДНК, а также показана ценность РНК-секвенирования для уточнения функциональной значимости соматических мутаций и интерпретации вариантов неопределенного значения. Особого внимания заслуживает раздел, посвященный разработке и валидации методов анализа глубокого секвенирования внеклеточной ДНК. В работе показано, что использование ансамбля алгоритмов и параметров покрытия позволяет достигать лимита детекции 0,25% VAF при высокой чувствительности и точности, что является значимым результатом для задач жидкостной биопсии и мониторинга опухолевой гетерогенности.

Важным результатом диссертационной работы является демонстрация дополнительной информативности интеграции данных ДНК, РНК и внеклеточной ДНК. Автор показывает, что при объединении данных разных платформ число пациентов с выявленными клинически значимыми мутациями в генах Cancerhotspots увеличивается с 51 при стандартном анализе ДНК тканевой биопсии до 58 при интегрированном анализе трех модальностей. Этот результат убедительно иллюстрирует практическую значимость мультимодального профилирования, особенно в контексте внутриопухолевой гетерогенности и возможного вклада метастатических очагов в профиль циркулирующей опухолевой ДНК.

Несомненным достоинством работы является также анализ функционального вклада РНК-секвенирования. В диссертации показано, что интеграция транскриптомных данных позволяет не только подтверждать экспрессию мутантного аллеля, но и выявлять дополнительные мутации, пропущенные при анализе ДНК, а также оценивать связь соматических вариантов с событиями альтернативного сплайсинга. Это особенно важно для интерпретации VUS-вариантов и для выявления потенциальных механизмов устойчивости опухолей к терапии. Представленные автором примеры, включая функциональную интерпретацию вариантов, влияющих на сплайсинг, демонстрируют высокий трансляционный потенциал предложенного подхода.

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием крупных клинических когорт, модельных клеточных линий, референсных генетических стандартов, а также применением современных биоинформатических и статистических методов. Существенным преимуществом работы является то, что разработанные подходы апробированы не только на модельных данных, но и на реальных клинических образцах, включая тканевые биопсии и образцы плазмы. Результаты диссертации отражены в научных публикациях и докладывались на международных конференциях, что подтверждает их значимость и признание в профессиональном сообществе.

Практическая значимость диссертации заключается в возможности использования разработанных подходов для повышения точности и воспроизводимости молекулярного профилирования опухолей, стандартизации NGS-тестов, улучшения интерпретации клинически значимых мутаций и расширения диагностических возможностей при работе с ограниченным или деградированным материалом. Полученные результаты могут быть востребованы в молекулярно-диагностических лабораториях, выполняющих комплексное геномное профилирование опухолей, а также в научных исследованиях, направленных на изучение опухолевой гетерогенности, механизмов лекарственной устойчивости и функциональной значимости соматических вариантов.

Вместе с тем, несмотря на высокий научный уровень диссертационной работы, к ней можно высказать ряд замечаний и пожеланий дискуссионного характера.

Замечания:

1. Представленные результаты по интеграции данных тканевой и жидкостной биопсии являются важными и практически значимыми, поскольку демонстрируют увеличение числа клинически релевантных находок при мультимодальном анализе. Вместе с тем относительно невысокое пересечение мутаций между ДНК тканевой и жидкостной биопсий, составляющее 27,1%, заслуживает более подробного обсуждения, особенно с

учетом увеличения числа находок для клинического рассмотрения в CancerHotSpot-генах со 107 до 133 событий. Было бы полезно подробнее рассмотреть возможные причины такого расхождения

2. В работе используются алгоритмические подходы и методы машинного обучения для фильтрации артефактов и повышения достоверности выявления соматических вариантов. Вместе с тем, описание параметров построения и валидации таких моделей могло бы быть несколько более подробным. В частности, было бы полезно расширить информацию о контроле переобучения, переносимости моделей на независимые выборки, а также устойчивости выбранных признаков при изменении характеристик исходного материала, платформы секвенирования или лабораторного протокола.
3. Основной акцент работы сделан на точечных мутациях и коротких инделах, что соответствует поставленным задачам. Тем не менее, для комплексного молекулярного профилирования опухолей значимыми остаются также структурные перестройки, изменения числа копий, фьюжен-гены, TMB, MSI и HRD-статус. В работе эти аспекты затрагиваются, однако перспективы интеграции предложенного подхода с анализом данных классов альтераций могли бы быть представлены более подробно.

Указанные замечания не снижают общей высокой оценки диссертационной работы, но могут быть учтены автором при дальнейших исследованиях и развитии предложенной методологии.

В целом диссертационная работа Юдиной Анастасии Сергеевны представляет собой самостоятельное, завершённое и научно значимое исследование, посвящённое актуальной проблеме молекулярной онкологии и персонализированной медицины. Автор продемонстрировала высокий уровень владения современными методами анализа геномных и транскриптомных данных, способность к постановке и решению сложных научных задач, а также умение интерпретировать результаты в биологическом и клиническом контексте.

Диссертация отличается научной новизной, методической глубиной, практической направленностью и достаточной степенью достоверности полученных результатов. Основные положения, выносимые на защиту, обоснованы представленными данными, выводы соответствуют поставленным задачам и логически вытекают из результатов исследования.

Заключение: диссертационная работа Юдиной Анастасии Сергеевны «Идентификация клинически значимых онкогенных молекулярных нарушений опухолей на основе геномных и транскриптомных данных» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 03.00.03 — «Молекулярная и клеточная биология», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Официальный оппонент,
Руководитель лаборатории клеточных технологий
ИМБ НАН Армении, ведущий научный сотрудник, к.б.н.

Нелли Бабаян

Подпись к.б.н. Н. Бабаян заверяю:
Ученый секретарь Института молекулярной
биологии НАН РА, к.б.н.



З. А. Хачатрян