

аденоматозный полипоз (САП) толстой кишки, MUTYH-ассоциированный полипоз (МАП) толстой кишки. Своеобразие патогенеза и клинико-биологические особенности опухолей, возникающих в контексте этих синдромов, закономерно требуют особого подхода к лечению таких больных.

Своевременное выявление бессимптомного носительства патогенных аллелей среди родственников больных наследственным РТК позволяет спланировать комплекс профилактических мер, направленных на предупреждение возникновения рака или выявление его на ранней стадии. Адекватное ведение бессимптомных носителей патогенных аллелей позволяет значительно снизить смертность от РТК и иных ассоциированных опухолей.

Технической, но абсолютно необходимой задачей, как для фундаментального изучения, так и клинико-практических нужд, является выявление наследственного РТК и молекулярно-генетическая верификация диагноза. Совершенствование подходов к молекулярно-генетической диагностике может опираться на точное знание популяционной специфики молекулярной эпидемиологии синдромов, а также на молекулярные особенности возникающих в их контексте новообразований.

Для наиболее часто встречающихся разновидностей наследственного РТК в ряде популяций известен выраженный «эффект основателя», преимущественное распространение в популяции небольшого числа аллелей, ответственных за развитие большинства случаев заболевания. Это дает возможность применения ступенчатого алгоритма диагностики: первичного определения статуса наиболее частых наследственных повреждений по расширенным показаниям с последующим применением анализа всей последовательности ДНК причинно-значимых генов в узкой группе больных высокого риска. Молекулярная эпидемиология всех трех частых разновидностей наследственного РТК, и в особенности МАП, в российской популяции изучена недостаточно.

Особенности спектра соматических мутаций, возникающих в опухолях, развивавшихся на фоне наследственных дефектов систем репарации, также можно использовать для выявления случаев соответствующих синдромов. Это прекрасно

изучено и повсеместно внедрено в клиническую и лабораторную практику в отношении феномена «микросателлитной нестабильности», свойственного синдрому Линча. Вместе с тем, подобное своеобразие возникающих соматических мутаций характерно и для МАП, в частности, ограничение потенциально широкого спектра соматических мутаций в каскаде RAS-MAPK единственной, сравнительно редкой при спорадическом РТК заменой p.G12C в гене KRAS. Однако в мировой литературе всего несколько работ посвящено апробации молекулярного критерия отбора случаев этого сравнительно нередкого опухолевого синдрома. Несмотря на относительно невысокую чувствительность, молекулярный критерий селекции случаев РТК на диагностику МАП мог бы быть очень востребован, так как клиника этого рецессивного синдрома очень вариабельна и полипоз часто носит невыраженный, стертый характер.

Таким образом, в ходе диссертационной работы Януса Григория Аркадьевича было проведено исследование молекулярной эпидемиологии синдрома Линча, семейного аденоматозного полипоза и MUTYH-ассоциированным полипоза в российской популяции; а также апробация использования наличия соматической мутации p.G12C в гене KRAS как скринингового молекулярного критерия селекции случаев РТК на диагностику МАП. Полученные результаты потенциально позволяют добиться важной как в научном, так и в практическом отношении цели совершенствования алгоритмов диагностики основных вариантов наследственного РТК, что определяет высокую актуальность темы данного исследования.

Достоверность и научная новизна исследования

Научная новизна исследования не вызывает сомнений. В работе впервые был продемонстрирован повторяющийся характер мутации p.R226L в гене MLH1 и p.R621X в гене MSH2 среди больных синдромом Линча в российской популяции. Впервые установлен повторяющийся характер мутации p.R245H в гене MUTYH среди российских больных МАП. Наконец, впервые, была проведена оценка частоты МАП в российской популяции.

В диссертационное исследование вошел обширный материал, включавший в себя различные группы пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. В том числе на наличие патогенных мутаций в генах MLH1, MSH2 и MSH6 были прогенотипированы 4 больных с выраженными признаками синдрома Линча, на наличие потенциально повторяющихся мутаций в этих генах были протестированы 42 образца РТК с наличием характерного для синдрома Линча феномена «микросателлитной нестабильности». С целью изучения молекулярной эпидемиологии САП и МАП была исследована вся кодирующая последовательность ДНК генов APC и MUTYH у 30 пациентов, страдавших полипозом толстой кишки. Дальнейший поиск потенциально повторяющихся мутаций в гене MUTYH был проведен в 91 образце РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS. Также для установления частоты МАП в российской популяции на носительство повторяющихся патогенных мутаций в гене MUTYH были протестированы 1120 здоровых доноров и 169 больных неселектированным РТК.

Достоверность основных положений и результатов диссертационного исследования не вызывает сомнений, поскольку они определяются достаточным объемом исследованных когорт, адекватным выбором методик исследования, четкой постановкой научных задач.

Научно-практическая значимость

Диссертация Януса Г.А. имеет высокую научную и практическую значимость. Автором получены важные научные сведения о молекулярной эпидемиологии трех основных вариантов наследственного РТК, в том числе впервые проведена оценка частоты МАП в российской популяции. Впервые выявлен ряд повторяющихся молекулярных повреждений, ответственных за развитие существенной части случаев соответствующих наследственных синдромов в российской популяции. Апробирован молекулярный критерий селекции больных РТК на молекулярно-генетическую диагностику МАП. В результате работы были выработаны практические рекомендации по оптимизации алгоритма поиска причинно-значимых повреждений в

генах, ассоциированных с синдромом Линча, семейным аденоматозным полипозом и MUTYH-ассоциированным полипозом.

Выдвинутые в диссертации положения обоснованно и логично вытекают из самостоятельно полученных автором результатов, оригинальность и достоверность которых, как и самой научной работы, не вызывает сомнений.

Структура и содержание диссертации

Диссертация хорошо оформлена, изложена ясным языком, читается легко, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Научная работа изложена на 239 страницах машинописного текста, включает 16 таблиц и 7 рисунков. Список литературы включает 758 источников российских и зарубежных авторов. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 3 - в журналах, включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК, а также 5 – в зарубежных изданиях, текущие номера которых входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science, Scopus, PubMed, Springer.

Во введении автор обосновывает актуальность научной работы, излагает цели и задачи исследования, выделяет научную новизну, практическую значимость и основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе на базе обзора научной литературы изложены современные представления о средовых и наследственных факторах риска развития РТК, особенностях канцерогенеза при РТК, обоснована важность и практическая значимость обособления многообразных разновидностей наследственного РТК друг от друга и от спорадического РТК. Продемонстрированы современные возможности на пути оптимизации молекулярно-генетической диагностики наследственного РТК.

Во второй главе изложены использованные материалы и методы, охарактеризованы когорты больных, вошедших в исследование, детально рассмотрены методики, применявшиеся для молекулярно-генетического анализа: выделение ДНК, ПЦР, гель-электрофорез продуктов ПЦР в полиакриламидном геле,

высокоточный анализ кинетики плавления продуктов амплификации, секвенирование ДНК по методу Сэнгера, аллель-специфическая ПЦР, аллель-дискриминирующий тест, основанный на применении зонда TaqMan, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). Описаны методы статистической обработки результатов.

В третьей главе изложены результаты исследования. Уточнены данные по спектру и структуре мутаций, описанных у российских больных синдромом Линча, на расширенной выборке больных с признаками этого заболевания проверен статус потенциально повторяющихся мутаций, причем для мутации p.R226L в гене MLH1 таковой был впервые установлен. Получены данные о спектре и структуре мутаций в гене APC среди российских больных полипозом толстой кишки, причем около трети молекулярно верифицированных случаев пришлось на носительство двух мутаций в «горячих точках мутагенеза» в гене APC. Получены данные о структуре и частоте мутаций в гене MUTYH в различных группах больных полипозом и РТК. Выявлено преимущественное распространение двух «паневропейских» повторяющихся мутаций, а также впервые установлен повторяющийся характер мутации p.R245H у российских больных. Установлена высокая частота биаллельных повреждений гена MUTYH у больных РТК с соматическими мутациями p.G12C в гене KRAS.

В четвертой главе представлено обсуждение полученных результатов. Проведено сопоставление полученных результатов с результатами других авторов. На базе результатов сформулированы выводы и практические рекомендации. Выводы соответствуют задачам исследования, логично следуют из результатов и закономерно обуславливают предлагаемые практические рекомендации.

К числу замечаний следует отнести указание на количественное несоответствие поставленных задач исследования и сделанных выводов, а также незначительные стилистические неточности и единичные опечатки, не влияющие, однако, на общую положительную оценку диссертационной работы. Принципиальных замечаний нет.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Януса Г.А. могут быть внедрены и использованы в любом медицинском подразделении, осуществляющем молекулярно-генетическую диагностику наследственного рака толстой кишки.

Заключение

Диссертация Януса Григория Аркадьевича является научно – квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи, имеющей существенное значение для клинической и молекулярной онкологии, и соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013г. №842, (с изменениями от 21.04.2016 г., № 335) утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология и 03.02.07 – генетика.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры онкологии и кафедры медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол № 9 от 23 мая 2017 года.

Профессор кафедры онкологии ФГБОУ ВО
«ПСПбГМУ имени академика И.П. Павлова»,
доктор медицинских наук, профессор



В.Н. Клименко

Заведующая кафедрой
медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО
«ПСПбГМУ имени академика И.П. Павлова»
кандидат биологических наук, доцент



М.А. Корженевская

Подпись руки заверяю:	<i>В.Н. Клименко</i>
Спец. по кадрам:	<i>М.А. Корженевская</i>
« 31 »	2017 г.