**Степанов Илья Александрович**

**дата защиты 11. 06. 2024г.**

Тема диссертации: «**Разработка молекулярно-генетического подхода к диагностике синдрома Ли-Фраумени на основе высокопроизводительного секвенирования**» по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек – все по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, участвовавших в заседании из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за –19, против - 0, недействительных бюллетеней – нет



ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.033.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. ПЕТРОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК СТЕПАНОВА ИЛЬИ АЛЕКСАНДРОВИЧА

аттестационное дело №\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 11.06.2024 № 11

О присуждении Степанову Илье Александровичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Разработка молекулярно-генетического подхода к диагностике синдрома Ли-Фраумени на основе высокопроизводительного секвенирования» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, принята к защите 05.04.2024., протокол №8 диссертационным советом 21.1.033.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68. Приказ №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Степанов Илья Александрович, дата рождения 01.01.1996, в 2019 году окончил федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 31.05.01 – лечебное дело. В 2022 году окончил аспирантуру по направлению подготовки «клиническая медицина» – 31.06.01, направленность программы – онкология в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. С 2019 по 2024 годы работал лаборантом, с 2024 года является младшим научным сотрудником научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

С 2022 год принят по внешнему совместительству на должность ассистента кафедры общей и молекулярной медицинской генетики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Справка №568 от 29 июля 2023 об успешной сдаче кандидатских экзаменов выдана ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

Диссертация выполнена в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в научной лаборатории молекулярной онкологии.

Научный руководитель:

- доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН Имянитов Евгений Наумович, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

- Белогурова Маргарита Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением химиотерапии (противоопухолевой лекарственной терапии) и комбинированного лечения у детей государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) имени Н.П. Напалкова» (Санкт-Петербург);

- Кутукова Светлана Игоревна – доктор медицинских наук, профессор кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, доцент кафедры онкологии факультета постдипломного образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург).

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург), в своем положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН Грановым Дмитрием Анатольевичем, научным руководителем цента, указала, что диссертационная работа Степанова Ильи Александровича «Разработка молекулярно-генетического подхода к диагностике синдрома Ли-Фраумени на основе высокопроизводительного секвенирования», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, направленных на оптимизацию молекулярно-генетического тестирования пациентов с синдромом Ли-Фраумени. Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 №842 (редакция от 26.10.2023 №1786) утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Степанов Илья Александрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 4 работы, из них 2 в рецензируемых научных изданиях (ВАК) и 1 в зарубежном издании, индексируемом в Web of Science и Scopus.

Основные работы:

1. Степанов И.А., Васильева Е.В., Соколенко А.П., Имянитов Е.Н. Частота и спектр наследственных мутаций в гене *TP53* в обширном исследовании российских пациенток с раком молочной железы // Вопросы Онкологии. – 2022. – Т.68. – №5. – С.589-597. doi:10.37469/0507-3758-2022-68-5-589-597. Авторский вклад 85%. *В данной работе описан алгоритм, позволяющий выявлять наследственные мутации в гене TP53 (причина синдрома Ли-Фраумени) у пациенток с опухолью молочной железы; обозначены технические сложности при секвенировании нового поколения и способы их преодоления.*
2. Степанов И.А., Васильева Е.В., Соколенко А.П., Имянитов Е.Н. Особенности наследственного *TP53*-ассоциированного опухолевого синдрома // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68. – №2. – С.140-148. doi:10.37469/0507-3758-2022-68-2-140-148. Авторский вклад 85%. *Данная работа освещает современные положения о критериях диагностики синдрома Ли-Фраумени, а также эпидемиологию и спектр возможных опухолей.*
3. Sokolenko A.P., Sokolova T.N., Ni V.I., Preobrazhenskaya E.V., Iyevleva A.G., Aleksakhina S.N., Romanko A.A., Bessonov A.A., Gorodnova T.V., Anisimova E.I., Savonevich E.L., Bizin I.V., Stepanov I.A., Krivorotko P.V., Berlev I.V., Belyaev A.M., Togo A.V., Imyanitov E.N. Frequency and spectrum of founder and non-founder *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a large series of Russian breast cancer and ovarian cancer patients // Breast Cancer Res. Treat. – 2020. – Т.184. – №1. – С.229-235. doi:10.1007/s10549-020-05827-8. Авторский вклад 80%. *В данной работе показана частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 у пациенток с опухолью молочной железы и яичников в самой большой выборке в Российской Федерации на момент публикации; описана методика диагностики при помощи секвенирования нового поколения; результаты для публикации получены при одновременном секвенированнии трех генов: BRCA1/2 и TP53, но демонстрируются лишь сведения, касающиеся генов BRCA1/2; сведения, касающиеся гена TP53 опубликованы в диссертации; статья позволяет сопоставить долю мутаций в BRCA1/2 и TP53 в диссертационном исследовании.*

Материалов или отдельных результатов, используемых в диссертации без ссылок на авторов и (или) источников заимствования, нет. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На автореферат поступило 2 отзыва от:

*-* кандидата *биологических наук* Кузнецовой Дарьи Сергеевны, заведующей научной лабораторией молекулярных биотехнологий научно-исследовательского института экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (Нижний Новгород);

- доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН Орлова Сергея Владимировича, директора федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (Сочи).

Все отзывы положительные, не содержат замечаний и вопросов.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются ведущими специалистами по теме диссертационного исследования и дали свое согласие, а ведущей организации – тем, что она является ведущей научной организацией в области онкологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**- разработана** и синтезирована панель зондов (набор) для секвенирования нового поколения (используется на этапе обогащения при подготовке образцов к секвенированию); апробированная панель, успешно выявляет наследственные мутации в гене *TP53* и удешевляет процесс диагностики, делая его доступнее по сравнению с коммерческими аналогами, не уступая по качеству;

**- предложен** алгоритм, позволяющий полностью исключить самую частую известную причину наследственного рака молочной железы – мутации в генах *BRCA1/2*; анализ частоты синдрома Ли-Фраумени среди пациенток с опухолью молочной железы осуществлен на выборке *BRCA1/2*-негативных образцов;

**- доказана** целесообразность проведения тестирования на основе высокопроизводительного секвенирования у пациенток с опухолью молочной железы, в особенности среди пациенток с первично-множественным злокачественным образованием, таким как билатеральный рак молочной железы или при сочетании опухоли молочной железы с другими видами опухолей;

**- доказана** целесообразность проведения тестирования на основе высокопроизводительного секвенирования у пациентов с глиобластомой.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

**- изложены** результаты тестирования самой большой выборки в России, обнаружено 12 случаев синдрома Ли-Фраумени; выявление позитивных образцов объясняется значительным объемом выборки, корректным подходом к подбору коллекции образцов и разработкой эффективного алгоритма диагностики;

**- доказано**, что алгоритм для диагностики синдрома Ли-Фраумени у пациенток с опухолью молочной железы эффективен, целесообразно тестировать одновременно с генами *BRCA1/2*.;

**- установлено**, что все обнаруженные наследственные мутации в гене *TP53* описаны ранее, однако не было выявлено повторяющихся мутаций гене *TP53,* таким образом «эффект основателя» в отношении данного синдрома в России обнаружить не удалось;

**- установлено**, что методом выбора для диагностики синдрома Ли-Фраумени является высокопроизводительное секвенирование.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики, подтверждается тем, что:

**-разработана** **и внедрена** панель, позволяющая проводить селекцию таргетного гена, которая удешевляет процесс диагностики синдрома Ли-Фраумени и не уступает коммерческому аналогу с неизвестной последовательностью зондов;

**- определена** частота синдрома Ли-Фраумени у пациенток опухолью молочной железы – 10/1519 (0,66%); у пациенток с первично-множественными злокачественными образованиями, при которых одна из опухолей – рак молочной железы составила 5/93 (5,4%); у пациентов с глиобластомой – 2/60 (3,3%).

Полученные соискателем результаты исследования внедрены и используются в практической и научно-исследовательской работе научного отдела биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (акт внедрения результатов от 24.07.2023). Результаты исследования могут быть использованы в практической деятельности специализированных онкологических лечебных учреждений при диагностике синдрома Ли-Фраумени, а также в учебном процессе на кафедрах онкологии медицинских ВУЗов.

Достоверность подтверждается достаточным объемом выборки (1903 образца) и высоким материально-техническим обеспечением научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России. При диагностике синдрома Ли-Фраумени исключен вклад *BRCA1/2*-ассоциированного опухолевого синдрома (самого распространенного) в выборке пациентов с опухолью молочной железы. Распространенность синдрома оценивалась только после исключения *BRCA1/2*-позитивных случаев. Применение разработанного набора зондов для секвенирования нового поколения предоставляет возможность расшифровать полную кодирующую последовательность гена *TP53*, сайтов сплайсинга и некоторых участков интронов. Это позволяет обнаружить все известные наследственные мутации в гене *TP53*. Исключена возможность пропуска мутации в любом участке гена. Обнаруженные мутации проходили валидацию альтернативным методом – секвенированием по Сэнгеру. Применены корректные методы статистического анализа: доля пациентов с синдромом Ли-Фраумени в выборке рассчитана в процентах, анализ таблиц сопряженности выполнен тестом хи-квадрат (χ2).

Личное участие автора состоит в выполнении молекулярно-генетических исследований на всех этапах: выделение нуклеиновых кислот, выполнение тестов методом полимеразной цепной реакции и высокопроизводительного секвенирования, анализ результатов. Автором выполнено обобщение и интерпретация полученных экспериментальных данных, их статистическая обработка, проведен анализ литературы: 4 отечественных источника и 131 – зарубежных. Сформулированы выводы и практические рекомендации. Участие соискателя в сборе первичного материла – 85%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Все научные результаты, представленные в работе соискателем, получены лично.

На заседании 11.06.2024 диссертационный совет пришел к выводу, что в диссертационной работе Степанова Ильи Александровича на тему «Разработка молекулярно-генетического подхода к диагностике синдрома Ли-Фраумени на основе высокопроизводительного секвенирования» по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, решена важная актуальная научно-практическая задача фундаментальной и клинической онкологии – разработан и внедрён эффективный и более дешевый (в сравнении с коммерческими аналогами) подход к обнаружению наследственных мутаций в гене *TP53*. Полученные автором результаты открывают перспективы дальнейшего изучения распространенности синдрома Ли-Фраумени. В практическом плане полученные результаты используются для диагностики синдрома Ли-Фраумени в научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Диссертационный совет принял решение присудить Степанову Илье Александровичу ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве – 19 человек, из них докторов наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия – 19, участвовавших в заседании из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН Беляев Алексей Михайлович

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук Филатова Лариса Валентиновна

11.06.2024