

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Януса Григория Аркадьевича «Методы молекулярно-генетической диагностики наследственного рака толстой кишки», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 (онкология) и 03.02.07 (генетика).

Проблема наследственной предрасположенности к злокачественному росту безусловно представляется весьма актуальной, так как исследования в этом направлении позволяют на современном уровне раскрыть механизмы патогенеза наиболее значимых для здравоохранения заболеваний. Несмотря на то, что доля наследственно обусловленных злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта не велика, их доскональное изучение позволяет не только продвинуться в диагностике и терапии этих патологий, но и решить многие фундаментальные вопросы канцерогенеза в целом. Данная работа как раз и посвящена выяснению характера мутаций в нескольких генах, определяющих 3 генетических синдрома рака толстого кишечника. Конкретно речь идет о синдроме Линча, семейном аденоматозном полипозе и так называемом ассоциированным с геном *MUTYH* полипозом.

Синдром Линча (наследственный неполипозный колоректальный рак) связан с мутациями генов *MSH6*, *MSH2* и *MLH1*, которые ответственны за репарацию ДНК с изменениями в результате неправильного встраивания оснований. Автор выявлял наличие мутаций в перечисленных генах при помощи анализа кинетики плавления продуктов амплификации с уточнением измененного сайта прямым секвенированием, а также другими точными методами, в том числе и связанными с детекцией крупных изменений. Факторы риска развития синдрома Линча относятся к доминантным, так как единичной мутантной копии гена достаточно для развития заболевания.

В рамках молекулярно-генетического тестирования САП – семейного аденоматозного полипоза диссертант исследовал ген *APC* (adenomatous polyposis of the colon), который относится к генам опухолевой супрессии. Мутации выявляли по кинетике плавления продуктов амплификации. Изменения при САП также относятся доминантным. Следует учитывать, что доминантность двух названных синдромов несколько условна, так как для проявления дефекта необходимо дополнительное исключение нормального аллеля в клеточных линиях.

Семейный аутосомно-рецессивный аденоматозный полипоз - MUTYH-ассоциированный полипоз связан с мутациями гена *MUTYH* (mutY DNA glycosylase), кодирующего ДНК-гликозилазу, участвующую в репарации повреждений, которые вызваны чаще всего окислительным стрессом (исключение поврежденных оснований). Для канцерогенеза в данном случае необходима гомозиготность по мутации или компаудность.

Диссертация оформлена по традиционной схеме, включает разделы: «введение», «обзор литературы», «материалы и методы», «результаты», «обсуждение полученных данных», «закключение», «выводы», «практические рекомендации» и «список цитированных источников». Текст занимает 239 страниц машинописи рекомендованного шрифта, включает 7 рисунков и 16 таблиц. Список цитированной литературы включает 758 источников. Необходимо отметить, объем диссертации существенно превышает рекомендованные. Особенно это касается раздела «обзор литературы», который занимает 109 страниц, а также «список источников» - 80 страниц (758 ссылок). В обзоре литературы многие разделы скорее всего лишние. Много внимание уделяется экзогенным факторам канцерогенеза, излишне подробно описываются наследственные синдромы, которые автор не изучал. В целом этот раздел следовало бы сбалансировать с экспериментальной частью. Список цитированных источников также слишком велик. В этот список должны были бы быть включены только наиболее существенные, связанные с темой работы. Конечно эти замечания по оформлению не

являются критическими, особенно, если результаты являются доброкачественными. Скорее всего за объемом текста необходимо было следить на стадиях оформления работы и предварительных заслушиваний. Следовало бы, наверное, упрекнуть за это рецензентов. Вместе с тем достаточно полно охарактеризованы заболевания, которые непосредственно входили в круг интересов автора.

Автор собрал экспериментальный материал, который является весьма репрезентативным для Санкт-Петербурга. В исследования были отобраны случаи с подтвержденным диагнозом. Методические подходы полностью адекватны поставленным цели и задачам и информативны. В ходе исследования получены новые сведения о распространении мутаций в генах предрасположенности к раку толстого кишечника. Выявлено существование нескольких мажорных «повторяющихся» мутаций, исследование которых могут служить начальным звеном алгоритма обнаружения мутаций в генах предрасположенности. Учитывая, что в России изучение молекулярно-генетических изменений при раках различного происхождения и локализации все еще находится в начальной стадии, данное исследование имеет большое теоретическое и практическое значение, так как позволяет на основании анализа структуры генов предрасположенности применить наиболее адекватные и эффективные схемы терапии, а также выяснить общие механизмы канцерогенеза. На основании полученных результатов разработан приемлемый для России алгоритм молекулярно-генетического тестирования больных со злокачественными образованиями кишечника.

Необходимо остановиться на используемой автором терминологии. Например, при описании эксцизионных систем репарации говорится о репарации оснований и нуклеотидов. На самом деле репарации (восстановлению) подвергается измененная ДНК. Поэтому перевод английских выражений должен звучать как репарация ДНК с удалением оснований, репарация ДНК с удалением нуклеотидов и репарация (mismatch repair) с исправлением неправильно спаренных оснований. В вину автора это

вряд ли следует ставить, так как неправильный перевод характерен для большого числа работ. В работе постоянно говорится о моно- и биаллельных мутациях. Более привычно говорить в этих случаях о гетерозиготности и компаундной гетерозиготности. Эти выражения автор также иногда использует. К замечаниям следует также отнести отсутствие расшифровки многих сокращений генов и их продуктов. В генетической литературе принято гены обозначать курсивом. Для малых выборок крайне нежелательно делать выводы в %, особенно, если в выборку попадает единичный случай. Говорить о скрининге, имея ввиду повторные обследования больных – носителей патогенных мутаций, вряд ли правильно. До недавнего времени такого рода наблюдения назывались «диспансеризация». Под скринингом обычно понимается массовое просеивающее исследование по определенным маркерам с целью последующей точной диагностики. Вряд ли следует считать, что все мутации, наиболее часто встречающиеся, являются следствием эффекта «основателя». Дело в том, что для любой мутации существует «основатель». Частота распространения мутации зависит от многих причин. Более правильно говорить о частых или мажорных мутациях. Часто встречающиеся мутации, действительно, облегчают диагностический алгоритм. К неудачным следует отнести следующие выражения: «педиатрическое заболевание» - заболевание детского возраста, «генотипирование гена» - генотипировать можно организм, а не ДНК, «гетерозиготная мутация» - мутация в гетерозиготном состоянии, «транкирующие мутации» - мутации, вызывающие укорочение продукта. Все замечания не являются критическими и могли быть вовремя устранены.

Выводы основываются результатах исследования и полностью их отражают. В практических рекомендациях приводятся обоснованные заключения о целесообразности типирования генов риска при выборе схем терапии. Автореферат отражает содержание диссертации. Необходимо отметить, что автореферат по структуре и сбалансированности разделов

выглядит лучше основного текста диссертации. Число опубликованных материалов, в которых представлены результаты работы, соответствует требованиям.

Таким образом, диссертация Янус Григория Аркадьевича «Методы молекулярно-генетической диагностики наследственного рака толстой кишки» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований получены новые знания о генетически обусловленных формах рака толстого кишечника и предложены практические рекомендации по выбору наиболее эффективных и адекватных схем диагностики. По актуальности, объему материала, соответствию молекулярно-генетических подходов задачам исследования, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Янус Григория Аркадьевича «Методы молекулярно-генетической диагностики наследственного рака толстой кишки» полностью соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 (онкология) и 03.02.07 (генетика).

10 сентября 2017 г.

Руководитель лаборатории  
молекулярной генетики человека  
Отдела молекулярной генетики  
ФГБНУ «ИЭМ»

д.м.н., проф. Шавловский М.М.  
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова 12  
Тел. 8(812)2346868, e-mail: iem@iemgams.ru



Подпись \_\_\_\_\_  
Удостоверяется  
отд. кадров ФГБНУ «ИЭМ»

*Шавловского М.М.*

*директора ФГБНУ «ИЭМ»*