

УТВЕРЖДАЮ



директор
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России

А.М. Беляев

_____ 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «Молекулярно-генетические и клиничко-биологические характеристики СНЕК2-, NBS1- и BLM-ассоциированного наследственного рака молочной железы» выполнена в научной лаборатории молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Лаптиев Сергей Александрович проходил обучение в аспирантуре федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по направлению подготовки 14.01.12 - онкология и 03.02.07 - генетика.

В 2010 г. Лаптиев С.А. 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 «лечебное дело».

В 2010-2011 гг. проходил обучение в клинической интернатуре по специальности «генетика» в ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

В 2010-2011 гг. проходил обучение в клинической ординатуре по специальности «генетика» в ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. акад. И.И. Мечникова» Минздрава России.

С 2012 г. по настоящее время работает в должности ассистента кафедры медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

Справка № 58-03/04 о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2018 г. ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН Имянитов Евгений Наумович, руководитель отдела биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, кандидат биологических наук Корженевская Марина Анатольевна, заведующая кафедрой медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

По итогам обсуждения диссертации «Молекулярно-генетические и клиничко-биологические характеристики СНЕК2-, NBS1- и BLM-ассоциированного наследственного рака молочной железы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.01.12 - онкология и 03.02.07 - генетика, принято

следующее заключение: диссертация является самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, имеющей элементы научной новизны, фундаментальное и научно-практическое значение, посвященной характеристике относительно новых разновидностей наследственного рака молочной железы в российской популяции, что имеет значение для разработки индивидуального подхода в лечении онкологических пациентов.

Актуальность представленного исследования:

Рак молочной железы (РМЖ) на сегодняшний день является одним из самых частых онкологических заболеваний, диагностируемых у женщин во всем мире. РМЖ представляет собой важную медицинскую проблему в связи с высокой заболеваемостью и смертностью среди женского населения. Наследственный РМЖ относится к разновидностям семейных форм рака, составляющим от 5 до 10% всех случаев РМЖ.

Огромное внимание к наследственному РМЖ появилось в 1990-х годах, когда были открыты первые гены-супрессоры опухолевого роста *BRCA1* и *BRCA2*, ассоциированные с этим заболеванием. Соответствующие ферменты - продукты этих генов поддерживают стабильность генома клетки, участвуя в механизмах репарации ДНК. Было показано, что опухолевые клетки РМЖ, ассоциированного с мутациями в генах *BRCA1/2*, имеют особые биологические параметры. Уточнение и детализация характеристик опухолевых клеток способствовали пересмотру фундаментальных аспектов данного заболевания. Подобный подход позволил персонализировать системную терапию у пациенток с РМЖ что, в ряде случаев, приводит к отказу от заведомо неэффективного, токсичного и дорогостоящего лечения.

Изучение *BRCA*-негативного семейного РМЖ привело к идентификации новых связанных с этим заболеванием генов: *CHEK2*, *PALB2*, *NBS1*, *PTEN*, *ATM*, *TP53*, *BARD1*, *BLM* и др., входящих в специализированную систему контроля распознавания повреждений и репарации ДНК. Любые мутационные дефекты выше названных генов могут приводить к дефектной работе системы репарации и генетической нестабильности клеток, предопределяя, таким образом, развитие новообразований.

Особенностью российских пациенток с наследственным РМЖ является относительно высокая частота мутаций в генах *BRCA1*, *CHEK2*, *NBS1*, *BLM*, и низкая частота мутаций в гене *BRCA2*. Мутации в генах *CHEK2*, *NBS1* и *BLM* обладают заметно меньшей пенетрантностью по сравнению с мутациями в генах *BRCA1/2*.

Известно, что ответ пациенток с РМЖ на противоопухолевое лечение отличается большой вариабельностью. В основе такой гетерогенности лежат индивидуальные различия в молекулярном патогенезе опухолей, обусловленные разнообразным спектром мутаций в «драйверных» генах, запускающих канцерогенез. Изучение молекулярно-биологических характеристик злокачественных клеток, ассоциированных с конкретными мутациями, открывает новые возможности для улучшения результатов лечения и прогноза для жизни пациенток с наследственным РМЖ.

Опухолевые клетки с мутациями в гене *BRCA1* характеризуются высокой чувствительностью к антрациклам и резистентностью к «золотому стандарту» лечения РМЖ - препаратами из группы таксанов. Оказалось, что, таксаны (доцетаксел и паклитаксел) оказывают противоопухолевый эффект через индукцию *BRCA1*-регулируемого апоптоза в раковых клетках, и поэтому дефицит белка *BRCA1* в мутантной клетке приводит к формированию резистентности к этим препаратам. Показано, что *BRCA1*-мутантные опухолевые клетки молочной железы, утратившие оставшийся «нормальный» аллель гена в результате делеции, демонстрируют выраженный дефицит компонентов системы репарации ДНК и проявляют исключительную уязвимость при лечении цитотоксическими препаратами платины (цисплатин), не входящими в стандарты терапии карцином молочной железы. Предиктивное значение генетической инактивации *BRCA1* не ограничивается только семейными случаями рака. Показано, что спорадические «трижды негативные» (ER-/PR-

Н

-) РМЖ также характеризуются высокой чувствительностью к препаратам платины за счет

В отличие от *BRCA1*-ассоциированных карцином молочной железы, молекулярные характеристики которых уже достаточно хорошо исследованы, свойства *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированного РМЖ практически не изучались до настоящего времени. Поскольку наследственные мутации в генах *CHEK2*, *NBS1* и *BLM* нередко встречаются в российской популяции, большую практическую значимость имеет выявление молекулярно-биологических параметров и клинической специфичности фенотипа опухолевых клеток, потенциально пригодных для персонализации терапевтического подхода.

Основная задача нашей работы состоит в молекулярно-генетической идентификации *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированных случаев РМЖ на дооперационном этапе, получении соответствующих КЛ, анализе их молекулярно-биологических параметров, изучении клинических особенностей и лекарственной чувствительности наследственного рака, поскольку возникает насущная потребность в системной оценке эффективности неоадьювантной цитотоксической терапии у носительниц мутаций вышеуказанных генов по сравнению со случаями спорадического РМЖ. Такое исследование имеет значимый клинический потенциал, так как среди российских женщин с наследственным РМЖ частота наследственных мутаций генов *CHEK2*, *NBS1*, *BLM* весьма высока, и в отношении этой категории больных до сих пор не сформулированы специфические терапевтические рекомендации. Полученные результаты позволят персонифицировать лечение, прогноз и подходы к медико-генетическому консультированию среди пациенток с подобными категориями наследственного РМЖ.

Научная новизна исследования:

Новизна исследования заключается в том, что в ходе работы получены новые данные касательно клинико-биологических особенностей и лекарственной чувствительности наследственных форм рака молочной железы, обусловленных повторяющимися мутациями в генах *CHEK2*, *NBS1* и *BLM*, распространенными в российской популяции. Впервые созданы клеточные линии *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированного наследственного РМЖ, пригодные для исследования лекарственной чувствительности данных разновидностей опухолей молочной железы.

Научно-практическая значимость работы:

Научно-практическая значимость работы заключается в том, что результаты настоящего исследования обосновывают возможность улучшения качества лечения данных категорий наследственного рака, за счет предварительного подбора терапевтических препаратов с наиболее эффективным лечебным потенциалом.

Степень достоверности результатов исследования:

Достоверность полученных результатов и выводов подтверждается достаточно представительными выборками пациентов, применением современных методов молекулярно-генетической диагностики, а также адекватными методами статистической обработки результатов исследования.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации:

Автором самостоятельно выполнен обзор отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы, проанализированы данные первичной медицинской документации, составлена база данных и проведена статистическая обработка клинического материала. Автором лично разработан дизайн исследования и составлена программа математико-статистической обработки данных, сформулированы выводы и практические рекомендации. Участие автора в накоплении информации - 90%, в экспериментальной части работы - 80% (включая выделение ДНК из крови и образцов опухолей пациенток с РМЖ,

проведение молекулярно-генетических анализов методом ПЦР и анализ результатов исследования), в математико-статистической обработке - более 90%, в обобщении и анализе полученных результатов исследования - 80%.

Внедрение результатов исследования:

Результаты настоящего исследования нашли отражение в научных работах (список прилагается), внедрены и используются в практической и научно-исследовательской работе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, кафедре онкологии ФГБОУ ВО «Северо-Западного государственного медицинского университета им. акад. И.И. Мечникова» Минздрава России.

Ценность научных работ соискателя:

Ценность научных работ соискателя заключается в изучении клинико-биологических особенностей относительно новых разновидностей наследственного рака молочной железы, обусловленных часто встречающимися у российских женщин мутациями в генах CHEK2, NBS1 и BLM, а также в исследовании лекарственной чувствительности данных категорий наследственного рака.

Соответствие содержания диссертации научным специальностям:

По объёму материала, методическому уровню, научно-практической значимости полученных результатов диссертационная работа «Молекулярно-генетические и клинико-биологические характеристики CHEK2-, NBS1- и BLM-ассоциированного наследственного рака молочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует специальностям: 14.01.12 - онкология в области изучения этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанных на достижениях генетики, молекулярной биологии, морфологии и других естественных наук (п. 2) и 03.02.07 - генетика в области генетики человека и наследственных болезней (п. 17).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем:

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из которых 4 входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ.

В опубликованных работах в рецензируемых научных изданиях в полной мере изложены основные научные результаты диссертации.

В диссертации соискателя отсутствуют заимствования материалов или отдельных результатов без ссылок на автора или источник заимствования.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Pfeifer W., Sokolenko A.P., Potapova O.N., Bessonov A.A., Ivantsov A.O., Laptiev S.L., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Matsko D.E., Semiglazova T.Yu., Togo A.V., Imyanitov E.N. Breast cancer sensitivity to neoadjuvant therapy in BRCA1 and CHEK2 mutation carriers and non-carriers // Breast Cancer Research and Treatment. - 2014. - Vol. 148(3). - P. 675-683.

2. Preobrazhenskaya E.V., Bizin I.V., Kuligina E.Sh., Shleykina A.Yu., Suspitsin E.N., Zaytseva O.A., Anisimova E.I., Laptiev S.A., Gorodnova T.V., Belyaev E.V., Imyanitov E.N., Sokolenko A.P. Detection of BRCA1 rearrangements by droplet digital PCR // Breast Cancer Research and Treatment. - 2017. - Vol. 165(3). - P. 765-770.

3. Лаптиев С.А., Корженевская М.А., Имянитов Е.Н. Молекулярный фенотип CHEK2-ассоциированных карцином молочной железы. III Всероссийская 14 Межрегиональная с международным участием научная сессия молодых ученых и студентов «Современные решения актуальных научных проблем медицины». - Нижний Новгород. - 2017. - С. 94.

4. Лаптиев С.А., Корженевская М.А., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетический портрет рака молочной железы // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. - 2017. - №24 (2). - С. 12-22.

5. Laptiev S.A. Breast cancer sensitivity to neoadjuvant therapy in CHEK2 mutation carriers and non-carriers // II Conference to the International Day of DNA «Modern Biotechnologies for Science and Practice». - St. Petersburg. - 2015. - P. 7-8.

6. Лаптиев С.А., Корженевская М.А., Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. Медико-генетическое консультирование при наследственных формах рака молочной железы и рака яичников // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. - 2018. - №25 (1). - С. 7-18.

7. Лаптиев С.А., Корженевская М.А., Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. Особенности новых наследственных форм рака молочной железы у Российских пациенток. Международный конгресс «VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы». - Санкт-Петербург. - 2019. - С. 749.

Заключение

Диссертационная работа «Молекулярно-генетические и клиничко-биологические характеристики CHEK2-, NBS1- и BLM-ассоциированного наследственного рака молочной железы» Лаптиева Сергея Александровича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 - онкология и 03.02.07 - генетика.

Заключение принято на заседании научной лаборатории молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Присутствовало на заседании 10 чел.

Результаты голосования: «за» - 10 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел.

Протокол № 4 от «16» апреля 2019 г.

Главный научный сотрудник
научной лаборатории субклеточных
технологий с группой онкоэндокринологии
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России
д.м.н., профессор



Л.М. Берштейн