

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.032.01, СОЗДАННОГО
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. БЛОХИНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «10» апреля 2025 г., №9

О присуждении Данишевич Анастасии Михайловне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Изучение фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции» по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия 1.5.7. Генетика принята к защите «06» февраля 2025 г. (протокол заседания №1) диссертационным советом 21.1.032.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, приказ о создании диссертационного совета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012 г., №561/нк от 03.06.2021 г.

Соискатель Данишевич Анастасия Михайловна, «10» июня 1990 года рождения.

В 2014 году соискатель окончила государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Педиатрия».

В 2020 году соискатель окончила аспирантуру на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в молекулярно-биологической лаборатории отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова (в настоящее время лаборатория молекулярно-генетической диагностики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей консультативно-диагностического центра).

Работает в должности врача-генетика, врача-лабораторного генетика центра персонализированной медицины Государственного бюджетного учреждения здравоохранения г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы».

Диссертация выполнена на базе молекулярно-биологической лаборатории отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова (в настоящее время лаборатория молекулярно-генетической диагностики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей консультативно-диагностического центра) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Экзамены кандидатского минимума сданы по дисциплинам: Онкология «10» декабря 2018 г., Генетика - «15» июня 2021 г., Иностранный язык (английский) - «29» мая 2018 г., История и философия науки (медицинские науки) - «22» мая 2018 г. Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 18/2023 выдана «11» августа 2023 года в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Научные руководители

- доктор медицинских наук, профессор, академик РАН Стилиди Иван Сократович, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор;

- доктор медицинских наук Любченко Людмила Николаевна, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел молекулярной генетики и клеточных технологий, заведующий.

Официальные оппоненты:

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», научно-исследовательский институт онкологии, лаборатория онковирусологии, заведующий;

Носов Дмитрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, онкологическое отделение противоопухолевой лекарственной терапии (с дневным стационаром), заведующий

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Ижевской Верой Леонидовной, доктором медицинских наук, доцентом, заместителем директора по научной работе, и Михайленко Дмитрием Сергеевичем, кандидатом медицинских наук, доцентом, ведущим научным сотрудником лаборатории эпигенетики, заведующим кафедрой онкогенетики, и утвержденном Куцевым Сергеем Ивановичем, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, указала, что диссертационная работа Данишевич А.М. является законченной, самостоятельной, научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований охарактеризовано прогностическое и предиктивное значение определение Эпштейн-Барр –

ассоциированного подтипа рака желудка и микросателлитной нестабильности в группе пациентов старше 50 лет, адаптирована мультигенная панель для NGS-тестирования и сформированы подходы к диагностике и медико-генетическому консультированию российских пациентов с наследственным раком желудка с учетом типа опухоли, личного и семейного онкологического анамнеза. Полученные результаты могут быть внедрены в клиническую практику и для усовершенствования таргетной терапии злокачественных новообразований. По актуальности темы работы, объёму проведённых исследований, новизне полученных фундаментальных и практических результатов, обоснованности научных выводов и научной значимости диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (в действующей редакции Постановлений Правительства Российской Федерации), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Данишевич Анастасия Михайловна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по научным специальностям 3.1.6 Онкология, лучевая терапия и 1.5.7 Генетика.

Соискатель имеет 23 опубликованных работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 8 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы.

В опубликованных работах отражены основные положения и выводы диссертационной работы, в том числе структура соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* и клинические характеристики Эпштейн-Барр-ассоциированного и микросателлитно нестабильного рака желудка, представлены результаты апробации разработанной кастомной панели генов и тестирования герминальных мутаций с частичным включение больных из когорты наследственного рака желудка, представленной в диссертации, а также клинический случай наследственного диффузного рака желудка,

ассоциированного с неописанным герминальным вариантом с.1596G>A в гене *CDH1*.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные публикации написаны в соавторстве, при личном вкладе соискателя не менее 75%, объем научных изданий составляет 1,5 печатных листа. Статьи соискателя имеют научно-теоретический и научно-практический характер.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Данишевич, А. М. Структура соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* и клинические характеристики ВЭБ-ассоциированного и микросателлитно-нестабильного рака желудка / А. М. Данишевич, Н. И. Поспехова, А. М. Строганова, Д. А. Головина, М. П. Никулин, А. Е. Калинин, С. Э. Николаев, И. С. Стилиди, Л. Н. Любченко // Молекулярная биология. — 2023. — Т.57. — №1. — С.71-84.

2. Bilyalov, A. The Spectrum of Germline Nucleotide Variants in Gastric Cancer Patients in the Kyrgyz Republic / A. Bilyalov, S. Nikolaev, A. Danishevich, I. Khatkov, K. Makhmudov, Z. Isakova, N. Bakirov, E. Omurbaev, A. Osipova, R. Ramaldanov, E. Shagimardanova, A. Kiyasov, O. Gusev, N. Bodunova. // Current Issues in Molecular Biology. — 2023. — №45. — С.6383–6393.

3. Bilyalov, A. Application of Multigene Panels Testing for Hereditary Cancer Syndromes / A. Bilyalov, S. Nikolaev, L. Shigapova, I. Khatkov, A. Danishevich, L. Zhukova, S. Smolin, M. Titova, T. Lisica, N. Bodunova, E. Shagimardanova, O. Gusev. // MDPI. Biology. — 2022. — №11. — С.1461 (11).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы из:

государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва. Отзыв подписан Бяховой Марией Михайловной, доктором медицинских наук, заведующим лабораторией генетики центра патологоанатомической диагностики и молекулярной генетики. В отзыве

указано, что диссертация Данишевич А.М. является законченным квалификационным исследованием, в котором осуществлено решение научной задачи – анализ фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции, имеющей важное значение для развития онкологии и генетики. Работа соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335, от 20 марта 2021 г. №426, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786, от 25 января 2024 г. №62), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 1.5.7. Генетика;

федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» Федерального медико-биологического агентства России, Московская область, г. Одинцово. Отзыв подписан Гордеевой Ольгой Олеговной, кандидатом медицинских наук, заведующим онкологическим дневным стационаром. В отзыве указано, что диссертация Данишевич А.М. является самостоятельным, законченным, квалификационным исследованием, в котором осуществлено решение актуальной задачи, имеющей важное значение для практического здравоохранения. Работа соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции Постановлений Правительства Российской Федерации), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Данишевич Анастасия Михайловна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 1.5.7. Генетика.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, и Носов Дмитрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор РАН, выбраны из числа компетентных в соответствующих отраслях науки ученых, являющихся экспертами по специальностям диссертации, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие.

Ведущая организация, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области клинической генетики и онкологии, способный определить научную и практическую ценность диссертации, и имеющий ученых, являющихся безусловными специалистами по теме защищаемой диссертации, что подтверждается наличием научных трудов по рассматриваемым в диссертации проблемам.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана концепция применения методов молекулярно-генетической диагностики и медико-генетического консультирования у больных раком желудка из российской популяции, позволяющая улучшить результаты диагностики, лечения и профилактики рака желудка с учетом статуса вируса Эпштейн-Барр, микросателлитной нестабильности, мутантного *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*-статуса, а также наследственной предрасположенности;

предложено определение статуса вируса Эпштейн-Барр, микросателлитной нестабильности в образцах опухолевой ткани рака желудка, а также даны рекомендации по медико-генетическому консультированию и ДНК-диагностике пациентов с наследственной предрасположенностью к раку желудка;

доказано, что исследование вируса Эпштейн – Барр в образцах опухолей ткани при раке желудка рекомендовано для определения прогноза заболевания и

оценки потенциальной иммуногенности опухоли; исследование статуса микросателлитной нестабильности у больных раком желудка рекомендовано в качестве предиктивного и прогностического маркера; причиной развития генетически-детерминированного рака желудка у пациентов из российской популяции являются синдром наследственного рака молочной железы и яичников, синдром Линча, *TP53*-ассоциированный опухолевый синдром, синдром наследственного диффузного рака желудка и Ли – Фраумени-подобный синдром;

введены практические рекомендации по молекулярно-генетической диагностике и медико-генетическому консультированию больных раком желудка из российской популяции в рутинную клиническую практику и процесс обучения врачей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, расширяющие представления о течении заболевания в зависимости от статуса вируса Эпштейн-Барр, микросателлитной нестабильности, мутантного *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*-статуса и индивидуального генотипа пациента, с использованием молекулярно-генетической диагностики, персонализации лечения и профилактики рака желудка у пациентов из российской популяции;

применительно к проблематике диссертации результативно **использованы** современные методы молекулярной диагностики, анализа клинических характеристики и прогностического значения при Эпштейн-Барр - ассоциированном, микросателлитно нестабильном раке желудка и при диагностике наследственно-обусловленного рака желудка с использованием методик современного статистического анализа;

изложены теоретически обоснованные аргументы о целесообразности исследования статуса вируса Эпштейн-Барр, микросателлитной нестабильности в опухоли при раке желудка и генотипирования геномной ДНК пациентов на наличие герминальных мутаций в генах *BRCA1/2*, *MLH1*, *MSH2*, *CDH1*, *CHEK2*, *TP53* при наличии наследственной предрасположенности;

раскрыты основные преимущества применения молекулярно-генетического тестирования и медико-генетического консультирования больных при раке желудка, что обеспечивает персонализированный подход к лечению пациентов и прогнозирование течения заболевания;

изучены клинико-морфологические характеристики Эпштейн-Барр-ассоциированного и микросателлитно нестабильного рака желудка, проведена оценка прогностического значения этих подтипов рака желудка в отношении отдаленных результатов лечения, изучена структура соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, определены частота и спектр наследственно-обусловленных форм рака желудка у пациентов из российской популяции.

проведена модернизация подходов к медико-генетическому консультированию и ДНК-диагностике для персонализации профилактики и лечения больных раком желудка.

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

разработаны и внедрены показания к применению ДНК-тестирования и медико-генетического консультирования больных раком желудка из российской популяции, целесообразность которых доказана в рамках выполненного исследования;

определены перспективы практического использования полученных результатов для персонализации лечения и профилактики рака желудка;

созданы и представлены практические рекомендации по диагностике статуса вируса Эпштейн – Барр, микросателлитной нестабильности в опухоли при раке желудка, медико-генетическому консультированию и молекулярно-генетическому обследованию при наличии наследственной предрасположенности к раку желудка, представлены перспективы дальнейшей разработки темы с применением молекулярной диагностики больных при раке желудка.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

Работа выполнена на высоком методологическом уровне, на достаточном по количеству наблюдений клиническом материале, использованные методики соответствовали поставленным задачам;

теория построена на подробном анализе отечественных и зарубежных литературных данных, международных клинических рекомендаций, посвященных молекулярно-генетической диагностике при спорадическом и наследственном раке желудка;

идея базируется на обобщении результатов передового опыта применения молекулярной классификации Европейской группы по созданию атласа генома рака (The Cancer Genome Atlas, TCGA) и классификация Азиатской группы по исследованию рака (Asian Cancer Research Group, ACRG), анализе результатов молекулярно-генетического обследования больных раком желудка при подозрении на наследственно-обусловленную форму заболевания с учетом ранее полученных данных зарубежных и российских исследований, а также ретроспективном анализе практических результатов диагностики и лечения больных раком желудка из российской популяции;

установлено, что в российской популяции частота Эпштейн-Барр-ассоциированного рака желудка составила 8,2 %, этот подтип рака желудка достоверно ассоциирован с мужским полом (92,3 %; $p < 0,01$). Доля микросателлитно нестабильного рака желудка составила 13,2 %, достоверно установлена взаимосвязь микросателлитной нестабильности с возрастом старше 50 лет ($p < 0,01$). Эпштейн – Барр – ассоциированный рак желудка является прогностически благоприятным подтипом в сравнении с микросателлитно стабильным Эпштейн - Барр - негативным раком желудка ($p = 0,03$). Частота клинически значимых вариантов генов *KRAS* и *PIK3CA* при раке желудка составила 7,5 % и 2,5 % соответственно. Не выявлено мутаций в кодонах 597–601 гена *BRAF*. Доля наследственно - ассоциированных форм рака желудка составила 8,6 % и представлена синдромом наследственного рака молочной железы и

яичников в 4,0 % случаев; синдромом Линча – в 2,0 %; *TP53*-ассоциированным опухолевым синдром – в 1,3 %; синдром наследственного диффузного рака желудка – в 0,7 % и Ли – Фраумени-подобный синдром – в 0,7 % случаев. У 15,2% пациентов с наследственной предрасположенностью к раку желудка выявлен 21 клинически значимый вариант нуклеотидной последовательности в генах, ответственных за развитие наследственных опухолевых синдромов, в гетерозиготной форме. Большая доля (66,7 %) мутаций диагностирована в генах систем репарации ДНК;

использованы востребованные методики молекулярно-генетической диагностики, включая полимеразную цепную реакцию, фрагментный анализ, массовое параллельное секвенирование; актуальные рекомендации по интерпретации данных секвенирования Американской коллегии медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) и Ассоциации молекулярных патологов (Association for Molecular Pathology, AMP); методики сбора, и обработки полученных данных с применением современных методов статистического анализа с использованием программы GraphPad Prism 8.0.0 (GraphPad Software, США).: общую выживаемость рассчитывали по методу Каплана – Мейера, различия между общей выживаемостью пациентов трех групп оценивали при помощи теста лог-ранга критерия Мантеля – Кокса, для попарных сравнений выживаемости группы пациентов сравнивали с помощью теста лог-ранга Мантеля –Кокса и критерия Бреслоу – Гехана – Вилкоксона. Выживаемость на определенных этапах исследования сравнивали с использованием точного теста Фишера, отличия общей выживаемости между подгруппами выявляли с применением U-критерия Манна – Уитни и критерия Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для сравнений после теста Краскела-Уоллиса применяли критерий Данна.

Личный вклад соискателя состоит в выполнении всех этапов диссертационной работы, в том числе анализ литературы, подбор клинического

материала, медико-генетическое консультирование, генотипирование биологических образцов 310 больных раком желудка, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Автором проведена самостоятельно проведена интерпретация результатов ДНК-диагностики, анализ полученных данных и оформление диссертационной работы. Соискатель разработал дизайн исследования, сформулировал цели, задачи, выводы, а также подготовил основные публикации по выполненной работе на основании набранного материала.

Диссертационная работа Данишевич Анастасии Михайловны на тему: «Изучение фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции, представленная по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия 1.5.7. Генетика, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, посвящена актуальной теме, имеет важное научно-практическое значение и соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года № 426, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 года №1786, от 25 января 2024 г. №62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

В ходе защиты диссертации критические замечания высказаны не были. Соискатель Данишевич Анастасия Михайловна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию, касающуюся молекулярно-генетической диагностики и медико-генетического консультирования у больных раком желудка из российской популяции.

На заседании «10» апреля 2025 года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи - изучение и установление особенностей

