

ПРОТОКОЛ № 3

заседания Диссертационного совета Д001.017.01 по защите диссертаций на соискание степени кандидата наук, доктора наук на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России от 7 февраля 2019 года.

ПРИСУТСТВОВАЛИ:

1. Заридзе Д.Г., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки» — заместитель председателя
2. Кадагидзе З. Г., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки» — ученый секретарь
3. Богуш Т. А., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
4. Бочарова О.А., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
5. Вашакмадзе Л.А., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
6. Гарин А.М., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
7. Глушанкова Н.А., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
8. Гурцевич В.Э., д.м.н., 14.01.12 «биологические науки»
9. Жордания К.И., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
10. Заботина Т.Н., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
11. Красильников М.А., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
12. Карпухин А.В., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
13. Лактионов К.К., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
14. Лихтенштейн А.В., д.б.н., 14.01.12 «биологические науки»
15. Петерсон С.Б., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
16. Поддубный Б.К., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»
17. Поляков В.Г., д.м.н., 14.01.12 «медицинские науки»

ПОВЕСТКА ДНЯ:

1. Защита диссертации Строгановой Анны Михайловны на тему «Молекулярно-генетические методы в диагностике нейробластомы»,

представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология;

I. СЛУШАЛИ:

Защиту диссертации Строгановой Анны Михайловны на тему «Молекулярно-генетические методы в диагностике нейробластомы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 онкология

Научный руководитель:

Карселадзе Аполлон Иродионович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, отдел морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, патологоанатомическое отделение, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Талалаев Александр Гаврилович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, кафедра патологической анатомии и клинической патологии, профессор;

Шароев Тимур Ахмедович, доктор медицинских наук, профессор, государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно–практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы», научный отдел, руководитель.

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения

Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном заключении, составленном Рыжовой Мариной Владимировной, доктором медицинских наук, заведующей патологоанатомическим отделением и утвержденном Потаповым Александром Александровичем, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, директором ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, указала, что диссертация представляет собой законченную самостоятельную научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и ее автор заслуживает искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы из:

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный медицинско-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв подписан заслуженным врачом Российской Федерации, заведующим кафедрой патологической анатомии, доктором медицинских наук, профессором Зайратьянцем Олегом Вадимовичем. В отзыве указано, что диссертация Строгановой А.М. посвящена актуальной теме современной онкологии, выполнена на репрезентативном материале, на высоком научно-методическом уровне, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения

ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Отзыв подписан заведующим хирургическим отделением №2 отдела общей онкологии (опухолей торако-абдоминальной локализации) НИИ детской онкологии и гематологии, доктором медицинских наук Казанцевым Анатолием Петровичем. В отзыве указано, что диссертация Строгановой А.М. посвящена актуальной теме современной онкологии, выполнена на репрезентативном материале, на высоком научно-методическом уровне, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Отзыв целиком положительный, замечаний нет.

ПОСТАНОВИЛИ:

1. На основании результатов тайного голосования (из утвержденного состава диссертационного совета 25 человек присутствовало 17 человек, роздано 17 бюллетеней, осталось неиспользованных бюллетеней — 0, оказалось в урне — 17. При вскрытии урны «за» проголосовало 16, «против» нет, недействительных — 1) считать, что диссертация соответствует требованиям ВАК при Минобрнауки России, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук и присудить Строгановой Анне Михайловне ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

2. Принять заключение Диссертационного совета Д001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в соответствии с

Положением ВАК при Минобрнауки России (текст заключения Диссертационного совета о научно-практической значимости диссертации Строгановой А.М. прилагается).

Заместитель председателя

диссертационного совета,

д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН

Д.Г. Заридзе

Ученый секретарь

диссертационного совета,

д.м.н., профессор

З.Г. Кадагидзе

7 февраля 2019 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д001.017.01 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 № _____

дата защиты 7 февраля 2019 г., протокол № 3

О присуждении Строгановой Анне Михайловне, гражданке Российской Федерации, степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Молекулярно-генетические методы в диагностике нейробластомы» в виде рукописи по специальности 14.01.12 – онкология принята к защите 27 сентября 2018 года, протокол №29 диссертационным советом Д001.017.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва, 115478, Каширское шоссе, д.24, Приказ о создании диссертационного совета №105/нк от 11.04.2012 г).

Соискатель Строганова Анна Михайловна, 1977 года рождения, в 2000 г. окончила Российский государственный медицинский университет по специальности «Биохимия».

С 2012 года работает в должности старшего научного сотрудника патологоанатомического отделения отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей научно-исследовательского института (НИИ) клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова 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).

Диссертация выполнена в патологоанатомическом отделении отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Научный руководитель:

Карселадзе Аполлон Иродионович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, отдел морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, патологоанатомическое отделение, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Талалаев Александр Гаврилович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, кафедра патологической анатомии и клинической патологии, профессор;

Шароев Тимур Ахмедович, доктор медицинских наук, профессор, государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно–практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы», научный отдел, руководитель.

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Николая Ниловича Бурденко» Министерства

здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном заключении, составленном Рыжовой Мариной Владимировной, доктором медицинских наук, заведующей патологоанатомическим отделением и утвержденном Потаповым Александром Александровичем, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, директором ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, указала, что диссертация представляет собой законченную самостоятельную научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и ее автор заслуживает искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Соискатель имеет 36 научных публикаций, из них по теме диссертации — 4, из них 4 статьи опубликовано в журналах, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки России.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Табаков, В.Ю. Новые возможности использования метода тканевых культур в диагностической онкоморфологии на примере нейробластомы и рака молочной железы / В.Ю. Табаков, А.М. Строганова, В.В. Честков, А.И. Карселадзе // Архив патологии. — 2011. — №3, том 73. — С. 34-40.

2. Строганова, А.М. Нейробластома: морфологическая структура, молекулярно-генетические особенности и прогностические факторы / А.М. Строганова, А.И. Карселадзе // Успехи молекулярной онкологии. — 2016. — №1, том 3. — С. 32-43.

3. Строганова, А.М. Белок CRABP 1 и его роль в процессе дифференцировки нейробластомы / А.М. Строганова, Г.Ю. Чемерис, Е.М. Чевкина, А.И. Сендерович, А.И. Карселадзе // Вестник ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». — 2016. — №2, т. 27. — С. 157-163.

4. Malakho, S.G. Fast detection of MYCN copy number alterations in brain neuronal tumors by real-time PCR. / S.G. Malakho, A. Korshunov, A.M. Stroganova, A.V. Poltarauš // J Clin. Anal. — 2008. — №2. — Vol. 22. — P. 123-30.

На диссертацию и автореферат поступил отзыв из:

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный медицинско-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв подписан заслуженным врачом Российской Федерации, заведующим кафедрой патологической анатомии, доктором медицинских наук, профессором Зайратьянцем Олегом Вадимовичем. В отзыве указано, что диссертация Строгановой А.М. посвящена актуальной теме современной онкологии, выполнена на репрезентативном материале, на высоком научно-методическом уровне, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Отзыв подписан заведующим хирургическим отделением №2 отдела общей онкологии (опухолей торако-абдоминальной локализации) НИИ детской онкологии и гематологии, доктором медицинских наук, Казанцевым Анатолием Петровичем. В отзыве указано, что диссертация Строгановой А.М. посвящена актуальной теме современной онкологии, выполнена на репрезентативном материале, на высоком научно-методическом уровне, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9 «Положения о

присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Отзыв целиком положительный, замечаний нет.

Обоснование выбора оппонентов и ведущей организации. Оппоненты выбраны из числа компетентных в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования и давших на это свое согласие. Ведущая организация выбрана как центр, широко известный своими достижениями в области клинической онкологии, способный определить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработан комплекс методик для уточнения диагноза нейробластомы, установления прогноза, определения тактики лечения и эффекта проведенной терапии, а также составлен научно обоснованный прогностически неблагоприятный комплекс.

Предложены оригинальные суждения по заявленной тематике, на основании которых был разработан комплекс методик для изучения многообразия клинического течения нейробластомы, который включает в себя: определение статуса гена *MYCN* методом метафазной FISH, изучение основных типов клеток нейробластомы методом первично-тканевых культур, иммуногистохимическое изучение белков, связанных с обменом ретиноевой кислоты.

Доказано, что результаты FISH-реакции, проведенной на тканевой культуре, не только совпали с результатами, проведенными на парафиновых срезах, но и в

отдельных случаях превзошли их по точности, и, самое главное, дали много деталей, невидимых на парафиновых срезах.

Введена новая методика по изучению экспрессии белка CRABP1 при нейробластомах. Экспрессия этого белка зависит от уровня клеточной дифференцировки, т.е. в недифференцированных и низкодифференцированных нейробластомах экспрессия белка была ниже, чем в созревающих и зрелых опухолях, ганглионейробластомах и ганглионевромах. Проведенное исследование является первой работой по изучению экспрессии белка CRABP1 в нейробластомах, ее связи с уровнем дифференцировки опухоли и оценки эффекта проведенной терапии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

в диссертации на основании исследования большого количества пациентов с нейробластомой **доказаны** положения, вносящие вклад в расширение представлений о механизмах амплификации и хронологии процесса формирования амплификации. Описаны и выделены следующие виды амплификации: в виде двойных ацентрических хромосом ($dmin$), гомогенно окрашенных регионов (HSR) и гетерогенный (смешанный) тип ($dmin+HSR$). Показано, что разные типы амплификации являются разными фазами одного и того же процесса - процесса амплификации гена.

Изложены убедительные доказательства того, что разработанный комплекс методик позволит уточнить диагноз нейробластомы, может использоваться в клинике при планировании лечения больных нейробластомой и оценки эффекта проведенной терапии.

Раскрыты основные преимущества использования метода первичных тканевых культур для детализации клеточного состава нейробластомы, изучения морфологических типов клеток и последующего проведения FISH-реакции на тканевой культуре, что позволяет выявить наиболее злокачественные по культурально-морфологическим характеристикам варианты нейробластомы, что в свою очередь определяет тактику лечения.

В данной работе изучены различные морфологические и молекулярно-генетические методы исследования образцов операционного материала больных нейробластомой, их возможностей в уточняющей диагностике, определении тактики лечения и эффекта проведенной терапии. Проведен сравнительный анализ экспрессии белка CRABP1 до и после проведенной терапии. Показано, что в процессе химиотерапии зачастую происходит повышение дифференцировки опухолевых клеток, отсюда и усиление экспрессии белка CRABP1 в опухоли после проведенного лечения. Рекомендовано использовать уровень экспрессии этого белка как дополнительный маркер для более точной оценки дифференцировки опухолевых клеток до и после лечения.

Проведена модернизация комплекса методик для изучения состояния гена *MYCN*, получения первичных тканевых культур нейробластомы с последующим проведением FISH-реакции, особенностей экспрессии белка CRABP1 для планирования терапии больных нейробластомой, обеспечившая получение результатов по теме диссертации и позволившая повысить информативность и достоверность проводимого исследования.

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

Разработан и внедрен метод определения уровня экспрессии белка CRABP1 для более точной оценки дифференцировки опухолевых клеток до и после лечения.

Определены перспективы практического применения полученных результатов для оптимизации установления прогноза, определения тактики лечения и эффекта проведенной терапии больных нейробластомой.

Созданы и представлены предложения по направлениям дальнейших исследований, целью которых является уточнение диагноза нейробластомы, установления прогноза, определения тактики лечения и эффекта проведенной терапии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и основывается на большом клиническом материале больных нейробластомой (322 образца операционного материала). Примененные методики соответствовали цели и задачам исследования.

Теория построена на данных ранее проведенных исследований, показавших необходимость разработки комплекса методик для уточнения диагноза нейробластомы. Основной задачей разработки является увеличение точности установления прогноза, определения тактики лечения и эффекта проведенной терапии. Применение современных молекулярно-генетических и цитогенетических методов привело к увеличению точности диагностики, а также к определению прогностических факторов и более глубокого понимания патогенеза опухоли.

Идея базируется на детальном анализе результатов наиболее значимых исследований. Принципы диагностики нейробластомы были разработаны уже давно и не претерпевали значительных изменений. До сих пор не существует комплекса методик, позволяющего увеличить точность диагностики, а также определить прогностические факторы для более глубокого понимания патогенеза опухоли.

Установлено, что предлагаемый соискателем комплекс методов, направленных на определение генетического статуса нейробластомы, ее клеточного состава и экспрессии белков в целях прогноза, определения рекомендаций и подготовки специфического лечения, позволяет: 1. Улучшить диагностику амплификации гена *MYCN*, выявить разные типы амплификации гена, одного из главных показателей агрессивности течения нейробластомы, ранней устойчивости к химиотерапии и неблагоприятного прогноза; 2. Улучшить детализацию клеточного состава нейробластомы, представив обоснования включения метода культивирования в комплексную диагностику нейробластом; 3. Улучшить оценку дифференцировки опухолевых клеток до и после лечения.

Использованы современные методики получения и статистической обработки информации. Исследование проведено на большом клиническом материале: в него были включены данные исследования 322 образцов операционного материала от пациентов с диагнозом нейробластома в возрасте от рождения до 17 лет. Применялись современные методики обработки информации. При анализе полученных данных, группы сравнения формировали в соответствии со стандартными клиническими данными о степени дифференцировки опухоли, наличии генетических нарушений, возрасте, поле пациентов и наличии метастазов. Частоты в выделенных группах сравнивали критерием Фишера или χ^2 . Абсолютные значения уровня экспрессии CRABP1 (% положительных клеток) использовали для вычисления коэффициента корреляции критерием Спирмена (r). Средние значения сравнивали с помощью t-критерия. Расчеты проводили в программе Statistica 7.0. Для всех критериев использовали двустороннюю оценку, при $p < 0,05$ различия считали достоверными.

Личный вклад соискателя состоит в планировании всех этапов диссертационной работы; проведении анализа отечественной и зарубежной литературы по данной научной тематике; личном участии в разработке и применении использованных методов исследования; получении, анализе и интерпретации данных об амплификации гена, культурально-морфологических характеристиках нейробластомы и экспрессии белка CRABP1 во всех образцах нейробластомы, включенных в исследование; апробации, внедрении и публикации результатов исследования.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, основной идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов.

Выводы диссертационного совета

Диссертационная работа Строгановой Анны Михайловны «Молекулярно-генетические методы в диагностике нейробластомы», представленная на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельным и законченным научно-квалификационным исследованием. Представленные научные положения можно квалифицировать как новое решение актуальной задачи в области клинической онкологии - разработка комплекса методик для уточнения диагноза нейробластомы, установления прогноза, определения тактики лечения и эффекта проведенной терапии. Методологический подход, уровень и объем проведенных исследований достаточны. Научные работы, опубликованные по теме диссертации, и автореферат полностью отражают основные положения диссертационной работы.

Представленная работа Строгановой Анны Михайловны соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 9 докторов медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология «медицинские науки», из утвержденного состава диссертационного совета 25 человек, проголосовали за присуждение ученой степени – 16, против присуждения ученой степени нет, недействительных бюллетеней — 1.

Заместитель председателя

диссертационного совета,

д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН

Д.Г. Заридзе

Ученый секретарь

диссертационного совета,

д.м.н., профессор

З.Г. Кадагидзе

7 февраля 2019 г.