

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.072.16 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 05.03.2019 г. № 5

О присуждении Баркову Илье Юрьевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Совершенствование системы пренатального скрининга анеуплоидий плода на основе анализа внеклеточной ДНК крови матери» по специальности 03.02.07 – Генетика принята к защите 18.12.2018 г. протокол № 7 диссертационным советом Д208.072.16 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (приказ № 506/нк от 24.05.2017 г.), адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Соискатель Барков Илья Юрьевич, 1964 года рождения, в 1990 году окончил медико-биологический факультет 2-го Московского ордена Ленина государственного медицинского института имени Н.И. Пирогова. После окончания института с 1990 г. по 1995 г. работал по государственному распределению в Медико-генетическом центре Московского областного научно-исследовательского института им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ) в должности врача-лаборанта-генетика. С 1995 года по настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории молекулярно-

генетических методов ФГБУ “НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова” Минздрава России.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители: доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения клинической генетики Института репродуктивной генетики ФГБУ “НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова” Минздрава России Каретникова Наталия Александровна; доктор биологических наук, профессор РАН, директор Института репродуктивной генетики ФГБУ “НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова” Минздрава России Трофимов Дмитрий Юрьевич.

Официальные оппоненты:

Петрин Александр Николаевич - доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических исследований отдела фундаментальных исследований ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Черных Вячеслав Борисович - доктор медицинских наук, заведующий лабораторией генетики нарушений репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Медико-генетический научный центр" дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов" (г. Москва), в своем положительном заключении, подписанным Азовой Мадией Мухамедовной – доктором биологических наук, профессором, заведующим кафедрой биологии и общей генетики медицинского института ФГАОУ ВО РУДН (протокол № 0300-05-04/6 от 13 февраля 2019г.), указала, что диссертационная работа Баркова Ильи Юрьевича «Совершенствование системы пренатального скрининга анеуплоидий плода на основе анализа внеклеточной ДНК крови матери», представленная к защите на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 - генетика, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для современной генетики. В исследовании Баркова Ильи Юрьевича успешно решена актуальная задача, заключающаяся в улучшении качества пренатального скрининга беременных женщин, проводимого с целью выявления хромосомной патологии у плода. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Баркова Ильи Юрьевича соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г (в редакции постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 - генетика.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 8 работ, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, 10 работ представлены в материалах научно-практических конференций и съездов. Публикации посвящены вопросам пренатального выявления хромосомной патологии у плода, в первую очередь с использованием неинвазивных методов, применению новых подходов к проведению пренатального скрининга хромосомной патологии с использованием высокопроизводительного секвенирования и поиска путей их совершенствования. Исследование пациентов, анализ полученных результатов и написание статей осуществлены лично соискателем. Общий объем публикаций составил около 4,0 печатных листов и содержит 86 % авторского вклада.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

Г.Т. Сухих, Д.Ю. Трофимов, И.Ю. Барков и др. Новые подходы к проведению пренатального скрининга хромосомной патологии: ДНК-скрининг по крови матери. Акушерство и гинекология. - 2016. - № 8. - с.72-78.

J. Shubina, D.Y. Trofimov, I.Y. Barkov, et al. In silico size-selection is effective in reducing false positive NIPS cases of Monosomy X that are due to maternal mosaic Monosomy X. *Prenatal Diagnosis*. - 2017. - Т.37 - №13 – с.1305-1310.

И.Ю. Барков, Е. Шубина, О.К. Ступко и др. Плацентарный мозаицизм по хромосоме 7, выявленный по результатам полногеномного неинвазивного ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери. *Акушерство и гинекология*. - 2018. - № 10 - с.59-63.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Барановой Елены Евгеньевны - кандидата медицинских наук, доцента кафедры медицинской генетики ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (г.Москва).

Отзыв на автореферат содержит оценку актуальности представленного исследования, научной новизны и практической значимости полученных результатов. Отмечается, что диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Миронова Константина Олеговича - доктора медицинских наук, руководителя научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ФБУН “Центральный НИИ Эпидемиологии” Роспотребнадзора (г.Москва).

Отзыв на автореферат содержит оценку актуальности представленного исследования, научной новизны и практической значимости полученных результатов. Отмечается, что автором диссертационной работы продемонстрировано клиническое значение анализа плодовой ДНК и предложен способ оценки данного параметра вне зависимости от пола плода. Также отмечается, что было определено отсутствие влияния индекса массы тела на диагностические показатели исследования и предложен способ происхождения (от матери или от плода) анеуплоидных клеток, что позволяет уменьшить число ложноположительных результатов и тем самым увеличить прогностическую ценность положительного результата.

Скрябина Николая Алексеевича – кандидата медицинских наук, руководителя лаборатории молекулярной диагностики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (г.Томск).

Отмечается, что диссертационная работа осуществлена на обширном клиническом материале, с привлечением комплекса современных методов исследования. В результате выполнения работы показано, что ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери обладает достаточными показателями чувствительности и специфичности, что позволяет рекомендовать его применение беременным женщинам как с низким, так и с высоким риском по результатам комбинированного скрининга I и II триместров. Диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Баранова Владислава Сергеевича - доктора медицинских наук, заслуженного деятеля науки, члена-корреспондента РАН, заведующего лабораторией пренатальной диагностики ФГБНУ “НИИ АГиР им. Д.О.Отта” (г.Санкт-Петербург). Отзыв также положительный, но содержит критические замечания и вопросы.

В отзыве отмечается, что соискателем проведена большая работа по валидации ДНК-скрининга на контрольной выборке с известными результатами инвазивной диагностики. Проанализированы причины расхождения результатов НИПС и стандартного кариотипирования, даны ограничения метода, разработан способ определения доли плодовой ДНК, которая является ключевым параметром валидности теста. В отзыве приводится ряд вопросов и замечаний. Ставится вопрос, почему не все заявленные в подразделе материалов и методов образцы вошли в финальную таблицу 4; указывается, что при оценке влияния срока беременности на долю фетальной фракции взято недостаточно образцов на поздних стадиях беременности. Поднимается вопрос о половых хромосомах при анализе двоен, а также возможно ли установить “разрешающую” способность метода. Однако, при этом указывается, что несмотря на высказанные замечания, всё исследование выполнено на высоком методическом уровне с использованием современных методов, практическая и

научная ценность диссертационной работы не вызывает сомнений, она является самостоятельным, квалифицированным научным трудом, соответствует всем требованиям ВАК и заслуживает присвоения автору ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Указанные выше отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается наличием публикаций по тематике представленной к защите диссертации в рецензируемых журналах, выбор ведущей организации – широко известными достижениями в области лечебно-диагностической помощи и экспертизе качества оказания медицинской помощи.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методика, позволяющая устанавливать долю плодовой ДНК независимо от присутствия Y-хромосомы, посредством использования однонуклеотидных полиморфизмов, произведен выбор конкретных однонуклеотидных полиморфизмов для определения доли плодовой ДНК;

предложены методические подходы, позволяющие различать мозаицизм плодового и материнского происхождения, а следовательно минимизировать количество ложноположительных результатов ДНК-скрининга;

доказана возможность применения ДНК-скрининга с использованием полногеномного подхода для выявления клинически значимых частичных анеуплоидий;

доказано отсутствие значимой корреляции доли плодовой ДНК со сроком беременности в рекомендованный для проведения ДНК-скрининга период с 11 по 18 неделю беременности;

доказано, что ДНК-скрининг можно применять при многоплодной беременности;

введены новые термины: при проведении неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода на основе анализа внеклеточной ДНК крови матери применены обозначения ДНК-скрининг, НИПС.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны высокие чувствительность и специфичность ДНК-скрининга с помощью проведенной впервые в России лабораторной валидации как на контрольной выборке из 349 образцов с известными результатами пренатальной инвазивной диагностики, при этом 63 образца были доставлены в лабораторию удаленно, 104 образца имели хромосомные нарушения по 21, 18, 13 и половым хромосомам, так и в рамках проспективного исследования, на выборке из 1145 образцов с известными исходами беременности;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных молекулярно-генетических, клиничко-лабораторных и клиничко-анамнестических методов исследований;

доказано наличие существенного вклада кариотипа самой женщины, мозаицизма плаценты и плода в случаях с ложноположительными результатами ДНК-скрининга;

доказано, что низкая доля плодовой ДНК и мозаицизм плода могут приводить к ложноположительными результатам ДНК-скрининга;

изложены подходы, позволяющие повысить точность проводимых исследований, определены факторы, которые влияют на результаты ДНК-скрининга;

раскрыта зависимость доли плодовой ДНК от веса и ИМТ пациентов;
изучена взаимосвязь доли плодовой ДНК и срока беременности.

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

Результаты исследования одобрены Ученым Советом ФГБУ “НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова” Минздрава России и применяются в практической работе Института репродуктивной генетики, в работе 2-го акушерского отделения патологии беременности, а также используются в учебном процессе на кафедре акушерства и гинекологии департамента профессионального образования ФГБУ “НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова” Минздрава России и в научно-производственной деятельности ООО “НПО ДНК-Технология”.

Представлены методические рекомендации “Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования”, утвержденные Российским обществом акушеров гинекологов.

Получен патент RU2016152686А "Способ определения источника анеуплоидных клеток по крови беременной женщины".

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

Исследование выполнено на представительных выборочных совокупностях, всего было исследовано 1918 образцов внеклеточной ДНК, полученных от пациентов на разных сроках гестации, из них 477 образцов были предоставлены в лабораторию удаленно, 1441 образец получен непосредственно в ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России. Общее количество исследованных с применением ДНК-скрининга образцов крови в 2-х ретроспективных группах составило 349, из них 104 образца крови пациентов, вынашивающих плодов с хромосомными нарушениями по 21, 18, 13 и половым хромосомам, что подтверждено кариотипом. При этом 63 образца доставлены в лабораторию удаленно, из них с подтвержденной кариотипированием хромосомной патологией - 22. В проспективной группе из 1155 образцов в 27 образцах имелись нарушения по 21, 18, 13 и половым хромосомам, которые были подтверждены кариотипом. Автором использованы современные методики сбора и обработки исходного материала.

Результаты исследования получены на сертифицированном оборудовании с применением научно обоснованных экспериментальных методик: обычного и молекулярно-генетического кариотипирования, метода FISH, полимеразной цепной реакции, QF-PCR, высокопроизводительного секвенирования. Показана воспроизводимость результатов в различных условиях, включая транспортировку и длительное хранение образцов внеклеточной ДНК. Для обеспечения достоверности результатов использованы качественные реактивы и расходные материалы. Обработка полученных данных проведена с использованием современных статистических методов.

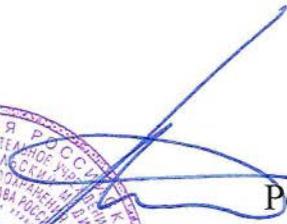
Идея о проведении неинвазивного пренатального ДНК-скрининга по крови матери базируется на данных большого числа авторитетных научных изданий, работ зарубежных и российских ученых, в которых рассмотрены различные аспекты циркуляции внеклеточной ДНК плода в кровотоке матери на различных этапах беременности. Проведено сравнение результатов исследования с данными, полученными ранее при проведении неинвазивного пренатального ДНК-скрининга в зарубежных лабораториях. Установлено, что полученные в ходе проведения работы данные согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования. Автором проведена систематизация литературных данных по теме диссертации, самостоятельно разработаны дизайн и программа исследования, диссертант принимал участие в обследовании, консультировании, диагностике, анализе включенных в исследование ретроспективных и проспективных результатов исследования пациентов. Автором осуществлялись: забор, подготовка, хранение биологического материала на преаналитическом этапе, участие в молекулярно-генетических исследованиях. Анализ, статистическая обработка полученных данных проведены автором самостоятельно в соответствии с правилами и обеспечивают достоверность результатов и сформулированных выводов. Описание и публикация результатов клинических и лабораторных исследований выполнены автором лично.

Диссертация Баркова Ильи Юрьевича соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016г. № 748), в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 05 марта 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Баркову Илье Юрьевичу ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени - 17, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор РАН  Ребриков Д.В.

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент  Ларина В.Н.



07.03.2019

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ ФГБОУ ВО РНИМУ
ИМ. Н. И. ПИРОГОВА Минздрава России

«07» 03 2019г.