

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Назаренко Людмилы Павловны, доктора медицинских наук, на диссертацию Глотова Олега Сергеевича на тему: «Секвенирование экзома человека и перспективы предиктивной медицины», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Внедрение новых геномных технологий в последние годы немало способствовало прогрессу молекулярной медицины, прежде всего - технологии полногеномного секвенирования NGS и микроматричного анализа aCGH. С появлением каждой из этих технологий существенно расширились возможности и изменились приоритеты внедрения генетических лабораторных тестов в клинической практике. С развитием новых молекулярно-биологических подходов происходят и соответствующие изменения в базовой терминологии. Намечился четкий переход от изучения индивидуальных генов и их вариантов (мутаций) к исследованиям патогеномики заболеваний, активному поиску биомаркеров, досимптоматической профилактике и персонализированному лечению мультифакториальных заболеваний. Возникла и развивается концепция генетического паспорта здоровья человека

Сегодня использование NGS существенно меняет биологический смысл терминологии. Начиная с 2015 г. в США, а затем в 2017 в России были разработаны рекомендации по интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности, согласно которым, вместо терминов «мутация» и «полиморфизм» рекомендовано использовать «вариант нуклеотидной последовательности» со следующими пятью характеристиками: патогенный (pathogenic); вероятно патогенный (likely pathogenic); неопределенного значения (uncertain significance); вероятно доброкачественный (likely benign); доброкачественный (benign). Данную терминологию активно стали применять не только в диагностическом плане, но и при проведении различных исследований. Исследование Глотова О.С. демонстрируют целесообразность применения этой терминологии.

Диссертационная работа Глотова Олега Сергеевича посвящена экспериментальным аспектам и интерпретации результатов, полученных посредством изучения экзома человека с применением методик секвенирования нового поколения (NGS). Идентификация полиморфных генов и их вариантов, ассоциированных с различными патологическими состояниями, позволяет детально изучить их возможную патогенетическую роль в развитии заболеваний человека и является основой для современной концепции предиктивной медицины.

Исследование Глотова О.С. позволяет на основании результатов экзомного секвенирования определить факторы риска социально-значимых заболеваний и

разработать методологические подходы для выявления клинически значимых генных вариантов с целью оценки риска развития моногенной, олигогенной и мультифакториальной патологии, тяжести протекания некоторых вирусных инфекционных заболеваний у человека на примере Северо-Западного региона России. Очерченная Готовым О.С. цель является актуальной проблемой клинической генетики, ее результаты имеют высокую научную и прикладную значимость.

Новизна полученных научных результатов не вызывает сомнений и состоит в том, что, с применением методологии экзомного NGS, впервые получены подробные данные о распространенности ряда моногенных заболеваний в Северо-Западном регионе РФ, в т.ч. фенилкетонурии, генетического дефицита фактора VII4, синдрома Элерса-Данлоса, болезни Вильсона-Коновалова, муковисцидоза и др. Впервые с использованием NGS описаны новые патогенные варианты в генах *PKP2*, *LDLR*, *GCK*, *HNFI1A*, *BLK*, *WFS1*, *EIF2AK3*, *SLC19A2*, *ATP7B*, *HIT* и проанализирована клиническая картина у пациентов с более чем одним генетическим вариантом для моногенного сахарного диабета (МОДИ) и болезни Вильсона-Коновалова. Впервые в Российской Федерации (РФ) проведена оценка клинического полиморфизма патологий, позволяющие понять природу заболеваний и предположить олигогенный характер наследования для гипертрофической кардиомиопатии, моногенного диабета, семейной гиперхолестеринемии. Показаны ассоциации вариантных генов и их сочетаний с клиническими проявлениями при данных заболеваниях.

Впервые, автором, обоснована эффективность: идентификации генов-кандидатов сахарного диабета 2 типа и ожирения при помощи экзомного секвенирования и оригинальных биоинформационных подходов для небольших когорт больных; применения регрессионной модели для оценки прогноза фенотипа на основе данных генотипирования больших групп генов для роста человека, а также 36 генетических маркеров для предсказания количественных признаков липидного метаболизма, а также жизненной емкости легких.

Впервые в РФ приводится биоинформатическое обоснование, что идентификация факторов риска моногенных заболеваний путем секвенирования экзома поможет в снижении риска не только моногенных, но и мультифакториальных заболеваний (МФЗ), подчеркивается отсутствие четкой грани между моногенными, олигогенными и МФЗ.

На основании данных NGS по 840 экзомов у пациентов с COVID-19, впервые в РФ изучены множественные генетические факторы риска развития тяжелых форм новой коронавирусной инфекции COVID-19, обусловленные как вариабельностью генома вируса SARS-CoV-2, так и генома пациента, и разработана прогностическая модель

развития цитокиновой реакции у этих пациентов во множестве патогенетически значимых генов.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что установлены новые механизмы возникновения и модификации фенотипических проявлений ряда тяжелых наследственных заболеваний, связанные с присутствием в генотипе специфических вариантов одного или разных генов-мишеней. Полученная информация о популяционной частоте аллелей известных и новых патогенных вариантов в генах может быть использована для интерпретации результатов NGS в клинической практике и дополнить отечественные и международные базы знаний в этой области.

Показано, что современные представления о генетическом варианте концептуально меняют наши знания о том, какие болезни являются моногенными, олигогенными и мультифакториальными.

Практическая значимость работы: предложены подходы в биоинформатике, которые учитывают ошибки референсного генома, популяционные частоты и другие особенности для корректной интерпретации данных секвенирования у конкретных пациентов. Верифицированные генетические варианты в различных генах-мишенях у одного пациента позволяют скорректировать тактику его консультирования, наблюдения и лечения. На основании проведенного исследования предложены алгоритмы генетической диагностики для некоторых форм диабета, болезни Вильсона-Коновалова, аритмогенной кардиомиопатии, семейной гиперхолестеринемии, и других заболеваний.

Найденные специфические и неспецифические генные маркеры для сахарного диабета и ожирения позволяют проводить дифференциальную диагностику и последующую индивидуальную терапию влияя на специфические метаболические нарушения, характерные для определенной нозологии. Предложены и апробированы новые GLM модели для предсказания роста, ИМТ, ОБ, ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и ЖЕЛ. Показана эффективность применения регрессионной модели для оценки прогноза фенотипа на основе генетических, анамнестических и клинических данных, которая может быть полезна для создания полигенных предикторов риска МФЗ.

Разработана концепция генетического клинического паспорта здоровья и новая методология определения генетических детерминант с последующей интерпретацией найденных вариантов, которая подтверждает клиническое значение генетических предикторов при формировании групп риска моногенных, мультифакториальных заболеваний и новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Достоверность результатов работы обеспечивается адекватностью применяемых молекулярно-биологических технологий, валидностью применяемых методов

биоинформатической и статистической обработки данных, а также репрезентативным объемом экспериментальных выборок (на основании исследований биоматериала от 4670 пациентов).

Данные подкреплены наглядными иллюстрациями и табличными данными. Заключение и выводы в строгой логической последовательности соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования.

Результаты исследования доложены и обсуждались на многочисленных российских и международных конгрессах и конференциях. По теме диссертационного исследования опубликованы 35 печатных работ соискателя, в том числе 13 в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для соискателей ученой степени доктора медицинских наук 24 основных статьи, индексируемые в международных базах данных WoS и Scopus, 1 монография и 1 методические рекомендации.

Диссертационная работа .Глотова О.С. изложена в монографической форме. Диссертация включает введение, три главы и заключение; изложена на 242 страницах текста, содержит 35 рисунков, 26 таблиц и 341 ссылку на использованные источники литературы и Интернет-ресурсы. Структура диссертации включает следующие разделы: введение, три главы и заключение.

Во введении и главе 1 описаны основные методологические подходы к выполнению и обработке результатов NGS генов человека. В главе 1 и 2 рассматриваются особенности трактовки результатов экзомной NGS для оценки генетических рисков при мультифакториальных, моно- и олигогенных заболеваниях. Глава 3 содержит сведения о применении NGS для исследования генных вариантов, предрасполагающих к тяжелым формам новой коронавирусной инфекции (COVID-19), с учетом генетических вариантов как самого вируса SARS-CoV2, так и генных полиморфизмов у конкретных пациентов. Достаточно полная информация представлена для полиморфизма гена *ACE2*, менее определенные ассоциации показаны между различными показателями тяжести COVID-19 и рядом генных вариантов, выявленных путем NGS экзома пациентов.

Необходимо отметить, что все выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, подкреплены публикациями в международных изданиях, что подтверждает их достоверность и высокий уровень проведённой работы, материал диссертации изложен логично, автор чётко и понятно доносит свои мысли до читателя, работа написана хорошим академичным языком. Название диссертации полностью отражает комплекс проведенных исследований. Работа выполнена на высоком методическом уровне, а полученные результаты вносят значительный вклад в изучение генетических основ здоровья человека.

Замечания и вопросы по диссертационной работе. В ходе анализа диссертационной работы возникли некоторые вопросы уточняющего характера и замечания:

1) Концепция генетического клинического паспорта здоровья и новая методология определения генетических детерминант с последующей интерпретацией найденных вариантов подразумевает в основе секвенирование экзона или еще другие генетические методы?

2) На сколько эффективно применение NGS по сравнению с классическими молекулярно-генетическими методами (ПРИ, ПЦР-ПДФР, секвенирование по Сенгеру) у пациентов с клинической картиной для известных заболеваний?

3) На сколько актуальным был раздел по новым GLM моделям предсказания роста, ИМТ, ОБ, ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и ЖЕЛ?

Учитывая важность поставленных целей и задач, несомненную научную ценность проведенных исследований и достоверность полученных результатов, диссертация Глотова Олега Сергеевича на тему: «Секвенирование экзона человека и перспективы предиктивной медицины» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Глов Олг Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.7 – генетика. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.


Член диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор
Руководитель лаборатории наследственной патологии
научно-исследовательского института медицинской генетики
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»
(1.5.7. – генетика)

 Людмила Павловна Назаренко

Подпись Назаренко Л.П. ЗАВЕРЯЮ
начальник отдела кадров

Дата 31 мая 2023г.



 Грачева Наталия Петровна