

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Назаренко Людмилы Павловны на диссертацию Савостьянова Кирилла Викторовича «Оптимизация молекулярной диагностики редких наследственных болезней у российских пациентов», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Актуальность темы исследования

В последние годы теме редких болезней уделяется много внимания в связи с новыми возможностями их патогенетической терапии. Актуальность научных исследований, направленных на разработку диагностических методик по выявлению биохимических и молекулярно-генетических нарушений, приводящих к развитию орфанных болезней, приобретают особую значимость, так как позволяют не только решить фундаментальные научные задачи биологии, затрагивающие прояснение механизмов развития редких болезней, определение частот редких болезней, а также спектра мажорных мутаций в различных популяциях. Эти исследования решают и прикладные задачи медицины, так как позволяют назначить персонафицированное лечение пациентам с диагнозом, подтвержденным на лабораторном уровне. Для большинства редких болезней, изученных в настоящей диссертационной работе, существует и успешно применяется такое лечение.

Значимость именно ранней диагностики редких наследственных болезней подтверждается результатами программ массового скрининга новорожденных, когда своевременная диагностика позволяет начать патогенетическое персонафицированное лечение до наступления необратимых изменений в организме больных детей. Особую актуальность диссертационная работа приобретает в связи с рассматриваемыми проектами расширения перечня нозологий, скринируемых в настоящее время в

Российской Федерации в рамках массового скрининга новорожденных. Селективный скрининг можно считать необходимой ступенью на пути к массовому скринингу, поэтому актуальность оптимизации разработанных в процессе проведения селективного скрининга алгоритмов молекулярной диагностики с учетом российских популяционных особенностей приобретает особую значимость.

Общее число редких наследственных болезней, известных к настоящему времени, их суммарная частота, а также младенческая смертность и детская инвалидность, вызываемые этими болезнями, представляют серьезную проблему для современного здравоохранения, поэтому актуальность темы исследования, выбранной Савостьяновым К.В., не вызывает сомнения.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Разработанные, адаптированные под конкретное оборудование и оптимизированные методы биохимической и молекулярно-генетической диагностики редких наследственных болезней основаны на современных принципах и имеют соответствующую научную и методологическую базу. Цель в полной мере отражает название диссертации, а реализация поставленных задач, строго направлена на достижение обозначенной цели. Положения, выносимые на защиту, обладают достаточной научной новизной и опираются на достоверные научные результаты, представленные в работе. Полученные данные обработаны с применением современных статистических методов на высоком профессиональном уровне. Выводы сформулированы в соответствии с полученными результатами, которые претерпели адекватную статистическую обработку с высоким уровнем достоверности, о чем свидетельствуют многочисленные данные, представленные в диссертационной работе. Достоверность положений и выводов диссертации обеспечена репрезентативностью выборок, достаточным объемом исследований с использованием современных высокотехнологичных методов

анализа и квалифицированной биоинформатической и математико-статистической обработкой полученных данных с последующей интерпретацией результатов исследования.

Применение на практике результатов диссертационной работы в деятельности лечебных учреждений в различных регионах Российской Федерации с положительным эффектом, а также их успешное использование в учебном процессе свидетельствует об очевидной достоверности полученных результатов и их практической ценности.

Публикация результатов рассматриваемой диссертационной работы в рецензируемых журналах ВАК, международных изданиях, а также в виде научных и постерных докладов на отечественных и зарубежных конференциях также свидетельствует в пользу достоверности и обоснованности положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Цитируемость печатных работ может также указывать на адаптацию результатов научной работы в практическую деятельность генетиков и врачей.

Высокая эффективность диагностических алгоритмов, разработанных в процессе данной научной работы, подтверждается патентами на изобретения и клиническими рекомендациями, утвержденными Министерством здравоохранения РФ, что может свидетельствовать о практической ценности полученных в работе данных, учитывающих популяционные особенности российских пациентов с редкими болезнями.

Научная новизна исследования

Диссертационная работа Савостьянова К.В. отличается высокой степенью новизны. В частности, впервые в мире описаны более 300 новых мутаций, вызывающих редкие наследственные болезни. Для подавляющего большинства этих мутаций описаны соответствующие им клинические особенности пациентов, у которых они были выявлены, что может способствовать прогнозированию развития схожего фенотипа у других пациентов в случае выявления в их геномах тех же мутаций.

Автором впервые описаны мажорные мутации, характерные для определенных этносов сразу в нескольких генах, а также мажорные мутации для всей российской выборки пациентов, что значимо для оптимизации выявления новых случаев редких болезней в различных субъектах нашей страны. Кроме того, в диссертационной работе впервые установлены доли различных типов наследственно обусловленных моногенных гликогенозов, стероидрезистентного нефротического синдрома, несовершенного остеогенеза и кардиомиопатий у российских детей.

В своем диссертационном исследовании автор впервые предложил использовать лизосомные глоботриаозилсфингозин и гликозилсфингозин, накапливающиеся в организме людей, страдающих болезнями Фабри и Гоше, в качестве аналитов для первичного скрининга пациентов, нуждающихся в ферментозаместительной терапии, убедительно доказав их преимущество по сравнению с другими биомаркерами, использовавшимися ранее для первичного скрининга на эти болезни.

Значимость полученных результатов для науки и практики.

Полученные результаты, выводы и практические рекомендации, сформулированные Савостьяновым К.В. в своей диссертационной работе, обладают несомненной значимостью для фундаментальной и прикладной науки. Совокупность полученных и представленных данных соответствуют задачам Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы в части медицины, утвержденной Постановлением Правительства РФ от 22 апреля 2019 года №479, и будут способствовать улучшению выявляемости пациентов, страдающих редкими болезнями, для которых существует патогенетическая терапия, своевременное применение которой должно исключить их тяжелую инвалидизацию.

Разработанные алгоритмы молекулярной диагностики мукополисахаридозов, гликогенозов, болезней Фабри и Гоше, тирозинемии, тип I, цистиноза, несовершенного остеогенеза, нефротического синдрома,

кардиомиопатий с учетом трудоемкости и эффективности использованных методов, а также спектра и относительных частот обнаруженных мутаций позволят оптимизировать работу, направленную на подтверждение новых случаев этих редких моногенных заболеваний в различных регионах РФ, а также на проведение профилактических мероприятий, направленных на недопущение повторных случаев возникновения болезней в отягощенных семьях.

Ассоциации генотипа и фенотипа, выявленные Савостьяновым К.В. в процессе работы над диссертацией, помогут практикующим врачам прогнозировать риски и препятствовать развитию нежелательных явлений, таких как, например, инсульт у пациентов с болезнью Фабри, обладая информацией о причинных мутациях и уровне глоботриаозилсфингозина. Кроме того, доказанные автором строгие различия в уровнях концентрации биомаркеров, накапливающихся в тканях пациентов с редкими болезнями, до начала терапии и во время ее проведения, помогут осуществлять успешный мониторинг персонализированной терапии болезней Фабри, Гоше, тирозинемии, тип I и цистиноза. А мутации, обнаружение которых позволяет прогнозировать развитие тяжелого фенотипа у российских пациентов с мукополисахаридозом, тип I, будет способствовать своевременному назначению и проведению трансплантации костного мозга.

Репрезентативность выборки, ее внушительный объем, а также большое число мутаций, не аннотированных ранее в различных базах данных, описанных в настоящей работе при помощи отечественного Руководства по интерпретации данных последовательности ДНК человека, позволяет рекомендовать это Руководство для определения патогенности новых мутаций у всех российских пациентов с наследственными болезнями.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 593 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и

методов исследования, 11 разделов результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы. Список цитируемой литературы включает 1037 наименований. Диссертация иллюстрирована 115 рисунками и 77 таблицами.

Глава «Введение» посвящена обоснованию актуальности диагностики редких наследственных болезней у российских пациентов, в ней сформулированы цель работы и задачи, поставленные для достижения заданной цели, дано краткое резюме работы, изложены положения, выносимые на защиту, отмечен личный вклад автора.

Обзор литературы состоит из четырех разделов, каждый из которых описывает исторические и современные представления о патогенезе, диагностике и лечении наследственных болезней обмена, несовершенного остеогенеза, нефротического синдрома и кардиомиопатий. Подробно рассматриваются особенности диагностики редких наследственных болезней, проведенной зарубежными авторами.

В главе «Материалы и методы исследования» автор приводит краткую характеристику биологического материала и выборки пациентов, подробно описывает экспериментальную часть работы, включая описание оборудования и методов исследования: тандемную масс-спектрометрию, молекулярно-генетические и молекулярно-цитогенетические исследования, а также биоинформатический анализ и статистическую обработку результатов исследования.

Результаты исследования в полной мере описывают данные диагностики 31954 пациентов, обследованных на 11 различных групп редких болезней, проведенной в соответствии с самостоятельно разработанными алгоритмами, анализируя и сравнивая полученные данные с зарубежными и предлагая оптимизацию биохимической и молекулярно-генетической диагностики, основываясь на собственных результатах, описывающих 1142 случая редких болезней с мутациями в 82 генах.

В разделе «Заключение» дана краткая оценка проделанной работы, выражена надежда на использование разработанных алгоритмов для работы в рамках расширения проекта массового скрининга новорожденных, а спектра и относительных частот мутаций – для создания российских баз данных по изученным в настоящей работе редким болезням, сочетающих в себе информацию о генотипе и фенотипе российских пациентов.

Сведения о полноте публикаций.

Основные результаты исследования опубликованы в 79 работах в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в российских и международных реферативных базах данных и системах цитирования, в том числе 27 научных статей в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 2 монографии, 2 патента на изобретения, а также клинические рекомендации по пяти нозологиям, утвержденные Министерством здравоохранения Российской Федерации. Результаты диссертационной работы были доложены на 48 российских и зарубежных конференциях.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат отражает основные положения диссертационного исследования, оформлен по определенному стандарту строго в соответствии с требованиями ВАК. Выводы и практические рекомендации соответствуют содержанию диссертации, следуют из полученных данных, научно аргументированы, соответствуют задачам исследования и основным положениям, выносимым на защиту.

Вопросы

1. Автором разработан и внедрен в практику ведущего многопрофильного педиатрического центра России алгоритм селективного скрининга детей с редкими наследственными патологиями, при этом интерес

представляет мнение диссертанта о целесообразности включения исследованных в работе болезней в перечень расширенного неонатального скрининга. Насколько это целесообразно и с какими трудностями это может быть сопряжено?

2. Большое внимание в работе уделяется исследованию нескольких групп болезней, объединенных схожими симптомокомплексами, эффективная патогенетическая терапия для большинства из которых еще не разработана. В чем заключается целесообразность дорогостоящей молекулярной диагностики этих болезней?

3. Диссертант неоднократно указывает на особую актуальность ранней молекулярной диагностики для пациентов, страдающих редкими болезнями, для которых разработана ферментозаместительная, либо субстрат-редуцирующая терапия. Существуют ли по мнению автора диссертационного исследования случаи редких болезней, для которых такая терапия не показана?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Савостьянова Кирилла Викторовича «Оптимизация молекулярной диагностики редких наследственных болезней у российских пациентов», представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика, является завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком методическом уровне, и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к докторским диссертациям. На основании исследований, выполненных автором, впервые разработаны и оптимизированы комплексные алгоритмы скрининговой биохимической и подтверждающей молекулярно-генетической диагностики российских пациентов на болезни Фабри, Гоше, Помпе, мукополисахаридозы, тип I и II, тирозинемия, тип I и цистиноз несовершенный остеогенез, тип I–XX, гликогеновую болезнь, тип 0–XV, а также наследственно обусловленные нефротический синдром и кардиомиопатии.

По актуальности, научной новизне, достоверности полученных результатов и их практической значимости диссертационная работа Савостьянова К.В. полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Савостьянов Кирилл Викторович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Официальный оппонент

заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра, руководитель лаборатории наследственной патологии, доктор медицинских наук 14.01.08 – «педиатрия» и 03.00.15 – «генетика», профессор, заслуженный врач Российской Федерации

Назаренко Людмила Павловна

Подлинность подписи д.м.н. Назаренко Л.П. «заверяю»

Ученый секретарь Томского НИМЦ

кандидат биологических наук

Хитринская Ирина Юрьевна

11 февраля 2021 года

Адрес организации: 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Научно-исследовательский институт медицинской генетики (НИИ медицинской генетики) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ)

Тел.: +7(3822) 51-22-28, e-mail: genetics@tnimc.ru