

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

диссертационного совета 21.2.058.09 на базе
Федерального государственного автономного 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 25.01.2022 г. № 1

О присуждении Коростину Дмитрию Олеговичу, гражданину
Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Представленность генетических маркеров анеуплоидий
плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин» по
специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки) принята к защите
16.11.2021 г. протокол № 1 диссертационным советом 21.2.058.09 на базе
Федерального государственного автономного 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, Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Соискатель Коростин Дмитрий Олегович, 1986 года рождения, в 2008
г. окончил биологический факультет Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по
специальности «Генетика».

В период подготовки диссертации (с 2017 г. по 2021 г.) и в настоящее
время Коростин Дмитрий Олегович работает в должности старшего научного
сотрудника группы методов высокопроизводительного секвенирования
Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для
биомедицины НИИ Трансляционной медицины Федерального
государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в Центре высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины НИИ Трансляционной медицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Ребриков Денис Владимирович – доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией редактирования генома Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Глотов Андрей Сергеевич – доктор биологических наук, руководитель отдела геномной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург);

Глинкина Жанна Ивановна – доктор биологических наук, генеральный директор ООО «Хайтек Генетикс» (г. Москва) – дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (г. Москва), в своем положительном заключении, подписанным доктором биологических наук Боринской Светланой Александровной – заведующей лабораторией анализа генома Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, и утвержденном директором

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук член-корреспондентом РАН А.М. Кудрявцевым (протокол № 1/11 от 30 ноября 2021 г.) указала, что диссертационная работа Коростина Дмитрия Олеговича «Представленность генетических маркеров анеуплоидий плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки), является законченным научно-квалификационным трудом, выполненным под руководством доктора биологических наук, профессора РАН Ребрикова Дениса Владимировича, и содержит новое решение актуальной научной и практической задачи – разработки молекулярно-генетического метода неинвазивного пренатального скрининга с использованием современных технологий высокопроизводительного секвенирования с дальнейшим алгоритмом обработки полученных данных.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Коростина Д.О. 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 02.08.2016 г., №650 от 29.05.2017 г., №1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертационной работы Коростин Дмитрий Олегович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Соискатель имеет 8 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 5 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, из них 1 публикация – в зарубежной литературе (журнал Genes), а также 2 в сборниках тезисов конференций, получен 1 патент. Публикации посвящены

молекулярно-генетическим аспектам разработки неинвазивного пренатального скрининга, текущему состоянию технологий высокопроизводительного секвенирования для анализа анеуплоидий плода по внеклеточной ДНК, а также клиническому применению методики в практической работе врачей. Исследование пациентов, получение результатов и их анализ проведены соискателем лично. Общий объем публикаций составил 2,49 печатных листа и содержит 80% авторского вклада. Оригинальность работы, определенная по системе «Антиплагиат», составляет 92,39%.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Коростин, Д.О. Неинвазивная пренатальная диагностика анеуплоидий методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) в группе женщин высокого риска /Каретникова Н.А., Шубина Е.С., Баранова Е.Е., Коростин Д.О., Екимов А.Н., Парсаданян Н.Г., Гус А.И., Бахарев В.А., Трофимов Д.Ю., Тетруашвили Н.К., Сухих Г.Т. //Акушерство и гинекология. – 2015. – №. 4. – С. 5-10.
2. Коростин, Д.О. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования (Клинические рекомендации) /Сухих Г.Т., Трофимов Д.Ю., Барков И.Ю., Донников А.Е., Шубина Е.С., Коростин Д.О., Екимов А.Н., Бахарев В.А., Каретникова Н.А., Баранова Е.Е., Тетруашвили Н.К., Ким Л.В., Павлович С.В., Скрыбин К.Г., Прохорчук Е.Б., Мазур А.М., Сангаев С.С, Пантюх К.С., Чеканов Н.Н.//Акушерство и гинекология. – 2016. – №. 6. – С. 3-22.
3. Коростин, Д.О., Новые подходы к проведению пренатального скрининга хромосомной патологии: ДНК-скрининг по крови матери / Г.Т. Сухих. Д.Ю. Трофимов, И.Ю. Барков, А.Е. Донников, Е.С. Шубина, Д.О. Коростин, А.Н. Екимов, А.Ю. Гольцов, В.А. Бахарев, Н.А. Каретникова, П.И. Боровиков, Н.К. Тетруашвили, Л.В. Ким, А.С. Гата, С.В. Павлович,

К.Г. Скрыбин, Е.Б. Прохорчук, А.М. Мазур, К.С. Пантюх // Акушерство и гинекология. – 2016. – №. 8. – С. 72-78.

4. Коростин Д.О., Плахина Д. А., Белова В. А. Неинвазивный пренатальный молекулярный скрининг: особенности внедрения в клиническую практику //Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2019. – №. 3.

5. Belova V., Plakhina D., Evfratov S., Tsukanov K., Khvorykh G., Rakitko A., Konoplyannikov A., Ilinsky V., Rebrikov D., Korostin D. NIPT technique based on the use of long chimeric DNA reads //Genes. – 2020. – Т. 11. – №. 6. – С. 590.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Шевелева Алексея Борисовича – доктора биологических наук, заведующего лабораторией ДНК-метилома и редактирования транскриптома Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук;

Баркова Ильи Юрьевича – кандидата медицинских наук, заведующего лабораторией Пренатального ДНК-скрининга Института репродуктивной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Отзывы на автореферат содержат высокую оценку актуальности представленного исследования, научной новизны и практической значимости полученных результатов. Отмечается, что диссертационная работа выполнена на высоком квалификационном научном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук Андрей Сергеевич Глотов и доктор биологических наук

Жанна Ивановна Глинкина – ведущие специалисты в области пренатального скрининга и молекулярно-генетической диагностики наследственных заболеваний, широко известные своими работами по тематике, представленной к защите диссертации.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук известно своими исследованиями и публикациями, близкими по теме диссертации, способно оценить научную новизну и практическую значимость полученных результатов данной диссертации и дало свое согласие.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана методика smash конструирования длинных химерных ридов из фрагментов внеклеточной ДНК, позволяющая выявлять анеуплоидии плода по 13, 18 и 21 хромосомам у беременных с высоким риском анеуплоидии по результатам комбинированного скрининга на сроках гестации 11-25 недель;
- разработана методика amplifet подготовки библиотек ДНК с использованием мультиплексной ПЦР на ОНП, отобранных по ряду критериев, позволяющая проводить оценку доли внеклеточной фетальной ДНК в образце внеклеточной ДНК, выделенной из плазмы крови беременной;
- разработаны биоинформатический и статистический алгоритмы для проведения совместного анализа результатов высокопроизводительного секвенирования библиотек ДНК для получения надежной информации о наличии анеуплоидий у плода по хромосомам интереса.
- доказана эффективность разработанной методики путем вычисления значений чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной прогностических значимостей определения кариотипа плода

по 13, 18 и 21 хромосомам, пола плода и доли фетальной ДНК во фракции внеклеточной ДНК беременной, которые соответствуют мировым аналогам.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- предложена методика скрининга анеуплоидий плода беременных по анализу циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК с помощью высокопроизводительного секвенирования длинных химерных ридов, включающая в себя лабораторный протокол пробоподготовки образцов биоматериала, в рамках которого также проводится подготовка библиотеки для оценки доли внеклеточной фетальной ДНК, а также биоинформатический и статистический протоколы для анализа данных.

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

- результаты внедрены в практическую работу Института репродуктивной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России;

- результаты диссертационной работы Д.О. Коростина «Представленность генетических маркеров анеуплоидий плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин» в части создания наборов реагентов для генетического анализа фетальной ДНК человека внедрены в серийное производство ООО «ДНК-Технология ТС» и коммерчески доступны на территории РФ;

- материалы диссертации внедрены в программу лекций «Молекулярная биология» для студентов II курса кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФGAOY BO PНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Оценка достоверности результатов исследования выявила: исследования проведены на высоком методическом уровне, с применением современных методов статистической обработки; достоверность полученных результатов обеспечена достаточным количеством изученного материала. Выводы работы и практические рекомендации научно обоснованы и вытекают из результатов исследования;

- методика неинвазивного пренатального скрининга с использованием длинных химерных ридов запатентована – патент RU2717023C1 «Способ определения кариотипа плода беременной женщины на основании секвенирования гибридных прочтений, состоящих из коротких фрагментов внеклеточной ДНК».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- для разработанной соискателем методики установлены значения чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной прогностических значимостей определения кариотипа плода по 13, 18 и 21 хромосомам, пола плода и доли фетальной ДНК во фракции внеклеточной ДНК беременной, которые соответствуют мировым аналогам, представленными в независимых зарубежных источниках;
- использованы современные методики сбора и обработки информации, в том числе корректный биоинформатический и статистический инструментарий для анализа результатов секвенирования образцов контрольной выборки.

Личный вклад соискателя состоит в:

участии на всех этапах проведения научно-практического исследования: соискателем проведена систематизация литературных данных по теме диссертации, самостоятельно разработаны дизайн и программа исследования. Д.О. Коростину принадлежит решающая роль в сборе контрольной выборки образцов, разработке стратегии экспериментов, отработке методик и обобщении полученных результатов. Анализ, статистическая обработка полученных данных проведены соискателем самостоятельно в соответствии с правилами и обеспечивают достоверность результатов и сформулированных выводов. Описание и публикация результатов исследований выполнены Д.О. Коростиным лично.

Диссертация Коростина Дмитрия Олеговича 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 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г.), в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 25 января 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Коростину Дмитрию Олеговичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.7. Генетика, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения ученой степени – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Ткачева Ольга Николаевна

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Ларина Вера Николаевна



26.01.2022 г.