

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**



**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук
(ИОГен РАН)**

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
http: www.vigg.ru

30.12.2021 № 92 -02-13/566

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

**Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт общей генетики им. Н.И.
Вавилова Российской академии наук
(ИОГен РАН)**

член-корреспондент РАН

А.М. Кудрявцев

«30» декабря 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей
генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук**

о научно-практической значимости диссертационной работы Коростина Дмитрия Олеговича «Представленность генетических маркеров анеуплоидий плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки)

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационное исследование Д.О. Коростина посвящено разработке неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода (НИПС) с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения на ранних сроках беременности. Открытие внеклеточной ДНК (внДНК) плода

в 1997 году в плазме беременных женщин стало предпосылкой к созданию направления неинвазивных пренатальных тестов, основанных на анализе этой ДНК. Циркулирующая вДНК в материнской плазме признана эффективным маркером для выявления частых хромосомных аномалий – трисомий по 21, 18, 13 хромосомам и анеуплоидий половых хромосом неинвазивным образом. Разработаны различные подходы к НИПС с использованием высокопроизводительного секвенирования. Серия научных работ подтвердила превосходящие чувствительность и специфичность данных методик по сравнению со стандартом на сегодня – тройным тестом (анализ биохимических и УЗИ-маркеров) или скрининга I триместра, что в итоге привело к широкому внедрению такого типа молекулярного скрининга в клиническую практику развитых стран, в том числе и при финансировании местными системами здравоохранения.

По результатам расчета риска анеуплоидии по данным тройного теста, беременных с высоким риском фетальных отклонений направляют на инвазивную диагностику, а именно амниоцентез или биопсию ворсин хориона – то есть процедур, связанных с прямым забором биоматериала плода для дальнейшего анализа его кариотипа.

Целью широкого внедрения НИПС является повышение эффективности массового скрининга беременных на ранних сроках беременности. На сегодняшний день, согласно рекомендациям Американского общества акушеров и гинекологов (ACOG), проведение НИПС рекомендовано всем беременным женщинам независимо от группы риска. В России сегодня НИПС применяется в ограниченных масштабах по двум причинам:

- тест технологичный и требует высококвалифицированных сотрудников и оборудованных лабораторий для задач высокопроизводительного секвенирования;
- себестоимость анализа существенно превышает таковую для скрининга I триместра: небольшое количество россиян может его позволить за собственные средства, технологические решения НИПС не имеют регистрационных удостоверений Росздравнадзора и не включены в ОМС.

Разработка и потенциальное внедрение в практику новейших способов неинвазивного скрининга на хромосомные аномалии является необходимым условием развития отечественного здравоохранения, поэтому актуальность темы диссертации Коростина Д.О. не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

В диссертационной работе Коростина Д.О. реализована и подробно описана методика проведения НИПС на выявление анеуплоидий по 13, 18, 21 хромосомам путём получения химерных прочтений методом воспроизводительного секвенирования, состоящих из коротких фрагментов вДНК, обнаруживаемой в плазме крови беременных пациенток. Предложена методика определения доли фетальной вДНК путем секвенирования общей вДНК по тщательно отобранной панели однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) для дальнейшего статистического выявления доли генотипа плода. Также в работе приведены актуальный биоинформатический и статистический протоколы обработки полученных данных секвенирования.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Работа выполнена на подробно описанной выборке клинического материала на высоком научно-методическом уровне, с использованием современных методов исследования и верификации полученных результатов. Стоит отметить, что в работе детально описаны лабораторные протоколы пробоподготовки образцов биоматериала, включая выделение вДНК, подготовку библиотек химерных ридов (smash) и ампликонов фрагментов генома (amplifet) для анализа внеклеточной фетальной ДНК, а также биоинформатическая обработка и статистический анализ полученных данных. Результаты диссертационной работы иллюстрированы достаточным количеством информативных рисунков и таблиц, что облегчает восприятие материала. Выводы и практические рекомендации корректно аргументированы, базируются на полученных данных и полностью соответствуют поставленным цели и задачам исследования. Диссертант подробно описывает ограничения метода и потенциальное развитие разработанного подхода в дальнейшем.

Из недостатков работы следует отметить:

1. в описании алгоритма биоинформатической обработки результатов не указана версия человеческого генома, которая использовалась для картирования прочтений;
2. база ОНП создавалась на основании популяционных баз данных, однако, для БД gnomAD правильнее было бы указать конкретную версию, использованную при создании базы ОНП;

3. в тексте изредка встречаются опечатки, ошибки пунктуации и согласования слов.

Несмотря на отмеченные замечания, работа Д.О. Коростина соответствует уровню кандидатской диссертации и обладает несомненной теоретической и практической значимостью.

Результаты исследования доложены на 2 российских конференциях. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 5 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получен патент РФ № 2717023 «Способ определения кариотипа плода беременной женщины на основании секвенирования гибридных прочтений, состоящих из коротких фрагментов внеклеточной ДНК» (RU 2 717 023 C1).

Значимость полученных результатов для науки и практики

Предложенная автором методика проведения НИПС при помощи длинных химерных прочтений представляет собой оригинальное решение построения библиотеки ДНК с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования. Описанные экспериментальные методики, а именно конструирование химерных библиотек ДНК smash, а также алгоритм подбора ОНП для создания библиотек amplifet, могут потенциально применяться для других молекулярно-генетических задач в фундаментальных научных исследованиях.

К наиболее значимым результатам работы, имеющим практическое значение для усовершенствования методов НИПС, можно отнести следующие положения:

- совершенствование существующего протокола подготовки библиотек для НИПС позволило повысить информативность каждого прочтения;
- на основании баз данных была сконструирована панель ОНП, которая позволила вычислять долю фетальной ДНК;
- высокая эффективность разработанных биоинформатических и статистических подходов для обработки результатов поставленных экспериментов;
- разработанная технология характеризуется высокими показателями прогностических значимостей, чувствительности и специфичности, которые соответствуют мировым аналогам;
- анализ экономической эффективности подхода, предложения по уменьшению себестоимости анализа при использовании другого оборудования.

Разработанная новая технология НИПС представляет исключительный интерес для внедрения в медицинскую практику, в особенности поскольку имеет меньшую себестоимость, чем имеющиеся на сегодня аналоги на рынке РФ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Результаты и выводы, полученные в настоящей диссертации, рекомендуется использовать в работе практикующих врачей медико-генетического консультирования для улучшения системы пренатального обследования и профилактики врожденных патологий плода и развития подходов персонализированной медицины в Российской Федерации.

Результаты и выводы диссертации могут быть использованы в научно-образовательном процессе ВУЗов при создании курсов лекций для студентов биологических и медицинских специальностей.

Диссертационная работа Коростина Дмитрия Олеговича на тему «Представленность генетических маркеров анеуплоидий плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин» оформлена в традиционном научном стиле в соответствии с требованиями ВАК и ГОСТ, изложена на 126 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов экспериментальных исследований, собственных результатов, обсуждения, выводов и списка литературы из 164 источников. Работа содержит 17 рисунков, 11 таблиц, 4 приложения. Выводы и практические рекомендации хорошо сформулированы, научно обоснованы, соответствуют цели и задачам исследования. Предложены перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Коростина Дмитрия Олеговича «Представленность генетических маркеров анеуплоидий плода во внеклеточной фракции крови беременных женщин», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика, является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим 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. В работе изложены научно-обоснованные решения, имеющие значение в развитии медицины и системы здравоохранения Российской Федерации.

Исследование Коростина Д.О. отвечает паспорту заявленной специальности 1.5.7. Генетика.

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).

Настоящий отзыв подготовлен заведующей лабораторией анализа генома ИОГен РАН, доктором биологических наук Светланой Александровной Боринской, обсужден и утвержден на заседании семинара ИОГен РАН, протокол № 1/11 от 30 ноября 2021 г.

Заведующая лабораторией
Анализа генома ИОГен РАН
доктор биологических наук
03.02.07 – Генетика

С.А. Боринская

«Подпись С.А. Боринской удостоверяю»

Ученый секретарь ИОГен РАН,
д.б.н., профессор



С.К. Абилев

«30» декабря 2021 г.