

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
**«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**
(Томский НИМЦ)

Адрес юридического лица: Набережная реки Ушайки ул.,
д. 10, Томск г., Томская область, 634050
Тел.: 8 (3822) 51 22 28
E-mail: center@tnimc.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,
ИНН / КПП 7019011979 / 701701001

Утверждаю

Директор
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский
медицинский центр
Российской академии наук»
доктор биологических наук,
профессор, академик РАН
В.А. Степанов

20.09.2024 № 02-1159

На № _____ от _____



«20» сентября 2024 г.

**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
о научно-практической значимости диссертации
Кашатниковой Дарьи Алексеевны
на тему «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и
пневмонии», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук
по специальности 1.5.7 – Генетика**

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Кашатниковой Д.А. посвящена изучению генетических аспектов детерминации степени тяжести COVID-19. Инфекционные заболевания всегда интригуют врачей и исследователей неоднозначностью иммунного ответа организма-хозяина на патоген. Так, при инфицировании одними и тем же возбудителем и при прочих равных факторах риска клинические проявления заболевания характеризуются широчайшей клинической гетерогенностью (что очень наглядно продемонстрировала пандемия COVID-19). В настоящее время понятно, что причина такого явления заключается в генетических особенностях иммунной системы. В диссертационной работе Кашатниковой Д.А. тестируется омнигенная модель, согласно которой тяжесть течения заболевания у пациентов с COVID-19 определяет совокупность редких вариантов. Проведен анализ данных полноэкзомного секвенирования, с акцентом на гены

иммунной системы, и, в первую очередь – на гены первичных иммунодефицитов.

В дополнение к крупномасштабному биоинформатическому исследованию, автором оценен иммунный статус пациентов как с COVID-19, так и с двумя вариантами бактериальной пневмонии (внеболической и нозокомальной) с помощью тестирования косвенных маркеров иммунного ответа (TREC и KREC).

Таким образом, актуальность проведенного исследования не вызывает сомнений. Сформулированные автором задачи в полной мере отражают пути достижения поставленной цели.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Автором оценен совокупный вклад различных генетических вариантов, с акцентом на редкие потенциально патогенные варианты (НІ варианты), в развитие тяжелого течения COVID-19. Впервые показано, что гены, вовлеченные в развитие первичных иммунодефицитов (ПИД), играют ключевую роль и в развитии тяжелого течения COVID-19. Определено, что наибольший совокупный вклад регистрируется для пула редких НІ вариантов в генах ПИД и их функциональных генах-партнерах. Показана высокая эффективность учета уровней TREC/KREC в прогнозировании тяжести течения COVID-19 и пневмонии. Выявлено, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 снижение уровня TREC коррелирует с увеличением числа редких НІ вариантов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность результатов исследования подтверждаются тем, что работа выполнена на высоком методическом уровне с широким спектром современных экспериментальных методов и биоинформатических подходов. Анализ результатов проведен с привлечением различных баз данных и современных публикаций; результаты

опубликованы в высокорейтинговых международных журналах и представлены на научных мероприятиях высокого уровня.

Практическая ценность диссертации

Представленный в работе количественный метод определения уровней TREC и KREC продемонстрировал высокий диагностический потенциал у пациентов с COVID-19 и бактериальной пневмонией. Метод может быть использован для прогнозирования групп риска по тяжелому течению и неблагоприятному исходу у пациентов, поступающих в клинику с внебольничной инфекцией, или у пациентов с риском развития внутрибольничной инфекции.

Значимость полученных результатов для развития соответствующей отрасли науки

Результаты исследования подтверждают омнигенную гипотезу, согласно которой фенотипические проявления определяется сетью взаимосвязанных генов, вносящих вклад в развитие признака в зависимости от их близости к рассматриваемому фенотипу. В соответствии с данной гипотезой, для тяжелого COVID-19 впервые было показано, что коровыми генами являются гены ПИД и их ближайшие гены-партнеры из сетей взаимодействий их белковых продуктов.

Общая характеристика работы, ее структура и содержание

Представленная работа оформлена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Работа представлена на 131 странице машинописного текста, содержит 13 таблиц и 28 иллюстраций. Список литературы включает в себя 260 источника (из них 255 зарубежные).

Во введении рассматривается актуальность проблемы, ее новизна и практическая значимость работы. Обзор литературы охватывает проблематику широкого спектра – от особенностей наследования редких и

широко-распространенных заболеваний, до генетической компоненты первичных иммунодефицитов и инфекционных заболеваний, иммунного ответа, а также рассматриваются методы аннотации генов и вариантов в них.

Материалы и методы описаны достаточно подробно. Охарактеризованы выборки пациентов с COVID-19, бактериальной пневмонией и контролем к ней, описаны молекулярно-генетические методы (полноэкзомное секвенирование и количественное измерение показателей TREC/KREC, а также пробоподготовка биообразцов для данных анализов), описаны использованные базы данных и статистические подходы для анализа данных. Дизайн и методы исследования адекватны цели и поставленным задачам.

В главе «Результаты и обсуждение», фактически, можно выделить несколько разделов: сравнение клинических характеристик пациентов с COVID-19, суммарная оценка данных полноэкзомного секвенирования, анализ редких патогенных/потенциально патогенных вариантов у пациентов, изучение генов ПИД с помощью баз данных, вклад генов ПИД в развитие COVID-19. Немного особняком стоит раздел, в котором характеризуется иммунный статус как у пациентов с COVID-19, так и у пациентов с двумя формами бактериальной пневмонии и в контрольной группе.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты исследования диссертационной работы Кашатниковой Д.А. преимущественно носят фундаментальный характер и могут быть использованы в образовательном процессе в биологических и медицинских ВУЗах, а также и на кафедрах последипломного образования специалистов для преподавания генетики и медицинской генетики, а также при выполнении научно-исследовательских работ аналогичной направленности. Кроме того, полученные в диссертационном исследовании результаты могут быть привлечены для прогнозирования тяжести течения инфекционных заболеваний.

Автореферат в целом соответствует диссертации и отражает основные этапы работы, выводы и результаты. Полученные результаты наглядно оформлены в виде графиков и таблиц.

По теме диссертации опубликовано 6 статей в журналах, реферируемых в базах Scopus и Web of Science и рекомендованных ВАК МОН РФ. Промежуточные этапы обсуждались на научных конференциях. Диссертационная работа соответствует специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки).

Замечания и вопросы по работе

1. Название не вполне соответствует содержанию, т.к. название звучит как «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и пневмонии», а в диссертации речь идет о генетическом ландшафте при COVID-19 (но не пневмонии) и иммунном статусе при COVID-19 и пневмонии.
2. Неудачная, слишком общая формулировка цели.
3. Задача 1 является технической, соответственно, невозможно по ней сформулировать вывод. Формулировка задачи 7 предполагает, что иммунный статус должен быть оценен у каких-то еще больных кроме пациентов с COVID-19 и пневмонией.
4. В оглавлении раздел «Результаты и обсуждение» не структурирован.
5. В тексте диссертации (включая формулировки цели, задач, положений, выносимых на защиту и выводов) встречается много стилистических погрешностей и терминологических неточностей.
6. В описании результатов по оценке нагруженности редкими патогенными/потенциально патогенными вариантами больных с тяжелым/легким течением COVID-19 не хватает конкретики. Так, при характеристике выявленных вариантов отсутствуют перечни генов, хотя там, где их количество невелико было ожидаемым увидеть такие списки (например, на стр. 87: «...общее количество редких НИ вариантов в генах ПИД было незначительным (8 вариантов в 7 генах)...»). То же самое касается биологических процессов: на стр. 88: «...было обнаружено, что

они участвуют в схожих биологических процессах и метаболических путях...». На странице 87, обсуждение всех результатов полноэкзомного секвенирование начинается со слов: «Данный анализ был основан на омнигенной гипотезе, с целью определения генов, ассоциированных с ПИД, как ключевых генов тяжелой формы течения COVID-19, ...», но непосредственно гены нигде и не упомянуты, везде по тексту фигурирует только количество замен. Естественно, невозможно привести такие данные в рамках всего экзома, но там, где речь идет об отдельных наборах генов, эта информация нужна, важна и ожидаема.

7. Наблюдается большой дисбаланс внимания автора к описываемым результатам. Так, результаты, полученные при анализе данных полноэкзомного секвенирования содержатся на страницах 56-88, на странице 89 впервые в «Результатах» упоминается пневмония, но раздел, посвященный ей, начинается только на странице 92, а на странице 100 уже заканчивается. Вместе с тем пневмония вынесена и в название, и в задачи, и в положения, выносимые на защиту, и в выводы. Если эта патология была привлечена только для сравнения, то не нужно было акцентировать на ней внимание.

Высказанные замечания не снижают научно-практическую ценность диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Кашатниковой Дарьи Алексеевны на тему «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и пневмонии» является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение актуальной научной задачи – выявление генетической компоненты, определяющей тяжесть течения COVID-19, что имеет существенное значение для медицинской генетики и здравоохранения.

Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства


РФ от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Кашатникова Д.А. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки).

Отзыв ведущей организации заслушан и утвержден на заседании лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 17 от «20» сентября 2024 года).

Старший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», канд. биол. наук (1.5.7 - генетика)

Бабушкина Надежда Петровна  «20» сентября 2024 года
подпись дата

Руководитель лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», д-р мед. наук (1.5.7 - генетика)

Назаренко Мария Сергеевна  «20» сентября 2024 года
подпись дата

Личные подписи канд. биол. наук Бабушкиной Н.П. и д-ра мед. наук Назаренко М.С. заверяю
Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», кандидат биологических наук

Хитринская Ирина Юрьевна  «20» сентября 2024 года
подпись дата



Сведения о Ведущей организации организации:
634050, Россия, г. Томск, Набережная реки Ушайки, дом 10
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»
Сайт организации: <http://www.tnimc.ru/>
e-mail: center@tnimc.ru
телефон: +7 (3822) 51-33-06

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
**«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**
(Томский НИМЦ)

Адрес юридического лица: Набережная реки
Ушайки ул., д. 10, Томск г., Томская область, 634050
Тел.: 8 (3822) 51 22 28
E-mail: center@tnimc.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,
ИНН / КПП 7019011979 / 701701001

24.06.2024 № 02-777
На № _____ от _____

Председателю Диссертационного
совета 24.1.088.01 при Федеральном
государственном
бюджетном научном учреждении
«Институт общей генетики им. Н.И.
Вавилова» РАН
Чл.-корр. РАН, д.б.н.
Захарову-Гезехусу И.А.

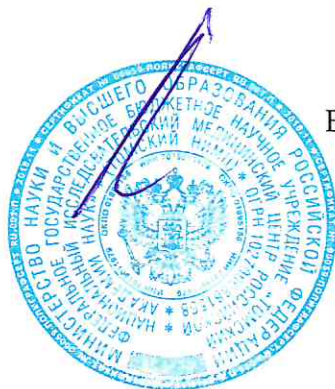
Уважаемый Илья Артемьевич!

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ) выражает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертационной работе Кашатниковой Дарьи Алексеевны на тему: «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и пневмонии» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. — Генетика (медицинские науки).

Подготовка отзыва будет осуществляться лабораторией популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, на заседании которой будет обсужден и принят отзыв. Утвержденный отзыв будет направлен в диссертационный совет в установленном порядке. Согласны на размещение сведений о ведущей организации и отзыва на официальном сайте вашего учреждения.

Приложение: - сведения о ведущей организации на 3 стр., в 2 экз.

Директор Томского НИМЦ
Академик РАН, д.б.н., профессор



В.А. Степанов

Сведения

о ведущей организации по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика
Кашатниковой Дарьи Алексеевны на тему: «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и пневмонии»

Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»
Сокращенное наименование	Томский НИМЦ
Почтовый адрес с индексом	634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10.
Телефон (канцелярия)	8 (3822) 51-33-06
Электронная почта	center@tnimc.ru
Фамилия, имя, отчество. Ученая степень, ученое звание, должность руководителя ведущей организации	Степанов Вадим Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	https://www.tnimc.ru/
Лаборатории. Кафедры или другие научные подразделения, деятельность которых связана с научным направлением диссертации	НИИ медицинской генетики: лаборатория наследственной патологии, лаборатория онтогенетики, лаборатория геномики орфанных болезней

Список основных публикаций работников НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ по теме диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет:

1. Гончарова И.А., Назаренко М.С., Бабушкина Н.П., Марков А.В., Печерина Т.Б., Кашталап В.В., Тарасенко Н.В., Понасенко А.В., Барбараш О.Л., Пузырёв В.П. Генетическая предрасположенность к инфаркту миокарда в разных возрастных группах // Молекулярная биология. 2020. Т. 54. № 2. С. 224-232. [Goncharova I.A., Nazarenko, M.S., Babushkina, N.P., Markov, A.V., Pecherina, T.B., Kashtalap, V.V., Tarasenko, N.V., Ponasenko, A.V., Barbarash, O.L., Puzyrev, V.P. Genetic Predisposition to Early Myocardial Infarction // *Molecular Biology*. V.54, I. 2, 2020, P. 196-203.]
2. Королёва Ю.А., Марков А.В., Гончарова И.А., Слепцов А.А., Бабушкина Н.П., Валиахметов Н.Р., Шарыш Д.В., Зарубин А.А., Кузнецов М.С., Козлов Б.Н., Назаренко М.С. Метилирование ДНК в области энхансера генов CDKN2A/2B и CDKN2B-AS1 в сосудах клеток крови у пациентов с атеросклерозом сонных артерий // Российский кардиологический журнал. 2020. Т. 25. № 10. С. 32-40. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-4060 [Koroleva Yu. A., Markov A.V., Goncharova I.A., Sleptsov A.A., Babushkina N.P., Valiakhmetov N.R., Sharysh D.V., Zarubin A.A., Kuznetsov M.S., Kozlov B.N., Nazarenko M.S. Deoxyribonucleic acid methylation in the enhancer region of the CDKN2A/2B and CDKN2B-AS1 genes in blood vessels and cells in patients with carotid atherosclerosis]
3. Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н. Вовлеченность генов белков BRCA1-ассоциированного комплекса наблюдения за геномом (BASC) в развитие многофакторной патологии // Молекулярная биология. 2021.Т. 55. № 2. С. 318-337 [Babushkina N.P., Postrigan A.E., Kucher A.N. Involvement of Variants in the Genes Encoding BRCA1-Associated Genome Surveillance Complex (BASC) in the Development of Human Common Diseases DISEASES // *Molecular Biology*. 2021. V. 55. № 2. P. 278-296.]

4. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Слепцов А.А., Назаренко М.С. Генетический контроль инфицирования человека SARS-COV-2 // Генетика. 2021. Т. 57. № 6. С. 615-631. [Kucher, A.N. I, Babushkina, N. P. I, Sleptcov, A. A. I, Nazarenko, M. S. I Genetic Control of Human Infection with SARS-CoV-2 // Russian Journal of Genetics. V.57(6). P.627-641]
5. Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. Экспрессионные исследования генов предрасположенности туберкулезу // Инфекция и иммунитет. Том 11, № 2. с. 209-222 [Babushkina N.P., Bragina E.Yu. Expression studies of tuberculosis susceptibility genes // Russian Journal of Infection and Immunity. Том 11, Выпуск 2, Pages 209 - 222]
6. Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Валиахметов Н.Р., Марков А.В., Беляева Е.О., Канев А.Ф., Назаренко М.С. Опыт молекулярно-генетической диагностики гипертрофической кардиомиопатии с использованием нанопорового секвенирования ДНК // Российский кардиологический журнал. 2021;26(10):4673
7. Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н. Ассоциации rs4244285 в гене *CYP2C19* с многофакторными заболеваниями // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. 2021. № 4. С. 125-131
8. Salakhov R.R., Golubenko M.V., Valiakhmetov N.R., Pavlyukova E.N., Zarubin A.A., Babushkina N.P., Kucher A.N., Sleptcov A.A., Nazarenko M.S. Application of Long-Read Nanopore Sequencing to the Search for Mutations in Hypertrophic Cardiomyopathy. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 15845
9. Бабушкина Н.П., Никитина М.А., Брагина Е.Ю., Алифирова В.М., Постригань А.Е., Девяткина Е.А., Гомбоева Д.Е., Назаренко М.С. Ассоциации генов систем репарации ДНК с болезнью Паркинсона // Acta Biomedica Scientifica. 2022. 7(6). С. 12-21/ doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.2
10. Постригань А.Е., Бабушкина Н.П., Свинцова Л.И., Плотникова И.В., Скрыбин Н.А. Клинико-генетические особенности врожденного синдрома удлинённого интервала QT // Генетика. 2022. Т. 58. № 10. С. 1164-1176 [Postrigan, A.E., Babushkina, N.P., Svintsova, L.I., Plotnikova, I.V., Skryabin, N.A. Clinical and Genetic Characteristics of Congenital Long QT Syndrome // Russian Journal of Genetics. 2022. 58(10), с. 1216-1227]
11. Бабушкина Н.П., Кучер А. Н. Регуляторный потенциал SNP-маркеров в генах, кодирующих белки систем репарации ДНК // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 1. С. 24–46 [Babushkina N.P., Kucher A.N. Regulatory Potential of SNP Markers in Genes of DNA Repair Systems // Molecular Biology. 2023. 57. № 1. p. 19-38]
12. Бабушкина Н.П., Зарубин А.А., Королева Ю.А., Гомбоева Д.Е., Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Голубенко М.В., Салахов Р.Р., Слепцов А.А., Кузнецов М.С., Козлов Б.Н., Муслимова Э.Ф., Афанасьев С.А., Кучер А.Н., Назаренко М.С. Метилирование регуляторных регионов генов системы репарации ДНК при атеросклерозе сонных артерий // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 4. С. 647-664 [Babushkina, N.P., Zarubin, A.A., Koroleva, I.A., Gomboeva D.E. Bragina E.Y., Goncharova I. A., Golubenko M. V., Salakhov R. R., Sleptcov, A. A., Kuznetsov M. S., Kozlov B. N., Muslimova E. F., Afanasiev S. A., Kucher, A.N., Nazarenko, M.S. Methylation of Regulatory Regions of DNA Repair Genes in Carotid Atherosclerosis // Molecular Biology. 2023. V. 57, No. 4, 637–652]
13. Гончарова И.А., Зарубин А.А., Бабушкина Н.П., Королева Ю.А., Назаренко М.С. Изменение профиля метилирования ДНК в ткани печени при прогрессировании HCV индуцированного фиброза до гепатоцеллюлярной карциномы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2023. Т. 27. № 1. С. 72-82 [Goncharova I.A., Zarubin A.A.,

