

**ОТЗЫВ**  
официального оппонента  
на диссертационную работу Кашатниковой Дарьи Алексеевны  
**«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 исследования**

Иммунная система – это одна из самых сложных систем организма человека, и ее правильное функционирование зависит от сложных, многоступенчатых процессов. Нарушения этих процессов на любом из этапов формирования и функционирования иммунной системы могут приводить к развитию, тяжелому течению и неблагоприятному исходу инфекционных заболеваний.

Известно, что пандемия инфекции SARS-CoV-2 стала глобальным кризисом для многих стран, и ученые всего мира сосредоточили свое внимание на различных аспектах течения заболевания, поражающего, в первую очередь, дыхательную систему и вызывающее развитие пневмонии. Однако и до пандемии заболеваемость пневмонией также была высока и смертность от нее затрагивала все возрастные группы. Неоптимальная работа иммунной системы, обусловленная, в том числе генетическими факторами, может осложнять течение пневмонии. Наличие генетической гетерогенности усложняет поиски генов, ассоциированных с заболеваниями, поэтому необходимы новые подходы, сочетающие в себе как экспериментальные, так и компьютеризированные (биоинформатические) методы. Также известно о том, что большая часть генетических вариантов не имеет клинической интерпретации. Например, среди людей с первичными иммунодефицитами только 40% имеют генетический диагноз. Поэтому целью исследований данной диссертационной работы было выявить генетические особенности таких иммуноопосредованных заболеваний как COVID-19, бактериальная пневмония и первичные иммунодефициты, с использованием как экспериментальных, так и биоинформатических подходов.

**Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа Кашатниковой Д.А. изложена на 131 странице машинописного текста и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы» и «Приложение». Иллюстративный материал диссертации представлен в виде 13 таблиц и 28 рисунков. Список литературы включает 260 литературных источников, из которых 255 источников зарубежной литературы.

Во введении автор обосновывает актуальность проведенного исследования, определяет цели и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы.

В литературном обзоре автор представляет научные данные по теме диссертации, ссылаясь на современные экспериментальные и теоретические научные статьи последних лет. Литературный обзор начинается с введения в тему редких и распространенных заболеваний, далее переходит к описанию генетических особенностей заболеваний: первичные иммунодефициты, инфекция COVID-19, пневмония. В разделе о генах первичных иммунодефицитов автор проводит дополнительное исследование основных

биологических путей и молекулярных функций, характерных для этих генов. Также автор затрагивает тему такой части генетики иммунитета как образование варибельных рецепторов основных иммунных клеток Т- и В-лимфоцитов. Последняя часть литературного обзора посвящена функциональной аннотации генов и генетических вариантов, которая включает описание наиболее используемых ресурсов и особенностей аннотирования.

В материалах и методах подробно описаны проводимые молекулярно-генетические и биоинформатические эксперименты, выборки пациентов, а также генетические онлайн-ресурсы.

Глава «Результаты и обсуждение» построена таким образом, что после каждого раздела следует обсуждение, а последующие разделы имеют небольшое введение, логически следующее за предыдущим разделом, что очень удобно для восприятия читателем.

Описание результатов начинается с анализа демографических и клинических данных 86 пациентов с COVID-19, которым было проведено экзомное секвенирование. Автор стратифицирует пациентов на подгруппы, разделенные по полу и возрасту, тяжести течения заболевания, а также стратифицирует различные генетические варианты по последствиям (миссенс, синонимичные, НИ варианты) и по аллельным частотам, чтобы выявить некоторые закономерности. После проведения всех сравнений вариантов среди выбранных подгрупп автор обнаруживает, что наибольшие эффекты наблюдаются среди редких НИ вариантов, которые ассоциированы с наиболее высоким предиктивным риском разрушительного воздействия на соответствующие белки. Интересным оказывается дальнейший подход проверки на наличие редких НИ вариантов в биологически важных генах, которые могут быть потенциально вовлеченными в развитие иммунологических заболеваний. Самые высокие эффекты наблюдались в генах, связанных с иммунными заболеваниями, а также в генах первичных иммунодефицитов, что было показано впервые. Далее Кашатникова Д.А. более детально изучает гены, ассоциированные с первичными иммунодефицитами с помощью баз данных ClinVar и HGMD<sup>®</sup>, и выявляет, что варианты, ассоциированные с этими генами, в большинстве своем не имеют клинической аннотации или относятся к вариантам с противоречивой интерпретацией. Далее базы объединяются по известным аллельным положениям вариантов (ClinVar/HGMD) для более детального изучения генов. Так как наибольший интерес в данной работе представляли потенциально патогенные НИ варианты, был использован ресурс dbSNP для сравнительного анализа с базой ClinVar/HGMD, который показал отсутствие большого количества НИ вариантов из dbSNP (25500 из 38291 НИ варианта) в объединенной базе ClinVar/HGMD. Особенно важно отметить, что выявленные НИ варианты в генах первичных иммунодефицитов в базе ClinVar/HGMD были сравнены с экзомными данными по редким НИ вариантам в генах первичных иммунодефицитов у 86 пациентов с COVID-19. Совпадение было минимальным, однако, Кашатникова Д.А. объясняет это недопредставленностью генетических диагнозов среди пациентов с первичными иммунодефицитами, а также сложным многокомпонентным путем реализации генетической информации до фенотипического уровня, на каждом из этапов которого возможны компенсаторные механизмы, минимизирующие генетически опосредованные нарушения. При сравнении экспрессии генов первичных иммунодефицитов в клетках крови человека (по базе данных картированных белков человека HPA) по отношению к остальным генам, для большинства субпопуляций иммунных клеток был показан более высокий уровень экспрессии генов первичных иммунодефицитов. Автор в обсуждении ссылается на то, что гены с высокой

экспрессией подвержены более медленной эволюции и вовлечены во множество генных сетей, что в следующем разделе подтверждает более обширным исследованием вклада генов первичных иммунодефицитов и их партнеров по белковым сетям в тяжелое течение COVID-19. Данный анализ проводится на 20 молодых пациентах до 45 лет, чем исключается влияние возрастного фактора. Автор показывает, что по мере отдаления функциональных партнеров генов первичных иммунодефицитов в генной сети от самих генов первичных иммунодефицитов, величина эффектов редких H1 вариантов в генах-партнерах уменьшается. Это первое экспериментальное подтверждение гипотезы омнигенной модели наследования комплексных признаков. Также для этой группы пациентов был проведен корреляционный анализ иммунного статуса, измеренного с помощью количественных показателей TREC и KREC, с количеством редких H1 вариантов (в генах первичных иммунодефицитов), который показал, что более тяжелое течение COVID-19 ассоциировалось с наличием большего числа соответствующих вариантов и с меньшим количеством TREC. При этом отдельное измерение количественных уровней TREC и KREC на большой выборке молодых пациентов с пневмонией (263 пациента) показало его высокую диагностическую ценность. С помощью данного анализа можно прогнозировать более тяжелое течение у инфекционных больных.

#### **Степень достоверности результатов и обоснованности выводов, сделанных автором, научная новизна и практическая значимость исследования**

Диссертация Кашатниковой Д.А. показывает влияние генетики человека на течение и исход инфекционного заболевания. В диссертации используются современные молекулярно-генетические и биоинформатические методы. Результаты, полученные автором, являются достоверными, представляют практический интерес и могут служить основой для дальнейших исследований. Полученные данные логически следуют друг за другом, автор объясняет зачем она проводит то или иное исследование после предыдущих результатов. Практически все данные были получены впервые. Особенно стоит отметить подтверждение недавно предложенной омнигенной гипотезы на экспериментальном уровне, выявление генов первичных иммунодефицитов в качестве ключевых генов тяжелого течения COVID-19, проведение корреляционного анализа между генетическими и иммунологическими данными, указывающими на риск более тяжелого течения COVID-19, а также использование анализа TREC и KREC у больных с бактериальной пневмонией.

Все полученные результаты диссертации полностью отражены в 6 статьях в международных журналах категорий Q1-Q2, индексируемых в WoS, Scopus и РИНЦ, а также доложены на 8 международных и российских конференциях.

#### **Замечания и вопросы**

Диссертационная работа Кашатниковой Д.А. написана понятным языком, выдержана в едином стиле, хорошо оформлена и содержит минимум ошибок. Однако к работе имеется несколько замечаний и вопросов:

1. Описание омнигенной модели представлено дважды – в разделах 3.1. и 5 «Обзора литературы».
2. Некоторые онлайн-ресурсы, используемые в работе, описаны недостаточно подробно.
3. Исследовалась ли омнигенная модель в контексте COVID-19 кем-то еще?

4. Чем отличается нагрузочный тест, широко применяемый при анализе редких вариантов, от представленного анализа кумулятивных эффектов редких вариантов. Есть ли подобные исследования в литературе?

### Заключение

В заключение следует отметить, что представленная диссертационная работа, несмотря на имеющиеся вопросы и замечания, является заметным вкладом в исследование иммуноопосредованных заболеваний. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Диссертационная работа Кашатниковой Дарьи Алексеевны «Генетический ландшафт и иммунный статус при COVID-19 и пневмонии» по своей актуальности, научной новизне, полноте описания и достоверности полученных результатов полностью соответствует п.п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, ред. от 01.10.2018 г. №1168, ред. от 20.03.2021 г. №426) специальности 1.5.7 - генетика, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Кашатникова Дарья Алексеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7.- генетика.

Дата 23.09.2024

Официальный оппонент

Хуснутдинова Эльза Камилевна

доктор биологических наук, профессор,

член-корреспондент РАО, главный научный сотрудник

Института биохимии и генетики – обособленного структурного

подразделения Федерального государственного

бюджетного научного учреждения Уфимского федерального

исследовательского центра Российской академии наук

Адрес: 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

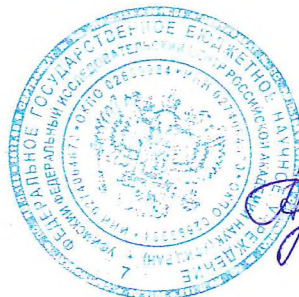
Тел.: +7 347 235-60-88

e-mail: [elzakh@mail.ru](mailto:elzakh@mail.ru)



Подпись Хуснутдиновой Э.К. заверяю:

И.о. директора Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, д.б.н.



Карунас А.С.