

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

03.03.2023 № 02-138
На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский медицинский
центр» Российской академии наук,
академик РАН
д-р биол. наук, профессор
Степанов Вадим Анатольевич



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу соискателя Зариповой Алии Рамилевны на тему:
«Генетическая архитектура незавершенного остеогенеза», представленной к
официальной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

Актуальность темы диссертационной работы

Незавершенный остеогенез (НО) – это редкое (орфанное) заболевание соединительной ткани, в основе которого лежат молекулярные дефекты в генах, ответственных за первичную структуру и модификации коллагена I типа, участвующих в сворачивании и/или сшивании коллагена, развитии остеобластов, а также минерализации костной ткани. Для заболевания характерна выраженная клиническая вариабельность и генетическая гетерогенность, существуют все типы наследования и спорадические случаи заболевания, что осложняет диагностику заболевания и медико-генетическое консультирование отягощенных семей. Несмотря на достигнутые успехи в идентификации молекулярного патогенеза заболевания, генетическая архитектура незавершенного остеогенеза до конца не определена, продолжается поиск новых патогенных вариантов в известных генах, а также новых генов, мутации в которых могут приводить к развитию заболевания.

В представленной работе Зариповой А.Р. осуществлен поиск и идентификация патогенных вариантов генов, приводящих к развитию незавершенного остеогенеза, и определение молекулярной гетерогенности заболевания в Республике Башкортостан.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна результатов, сформулированных в диссертации Зариповой А.Р., состоит в том, что впервые проведено молекулярно-генетическое исследование пациентов с НО из Республики Башкортостан с использованием массового параллельного секвенирования. В результате исследования

идентифицировано 43 патогенные мутации в генах, которые являются причиной НО, 11 из которых ранее не описаны. Был идентифицирован 31 патогенный вариант изменения нуклеотидной последовательности в двух генах коллагена I типа (*COL1A1* и *COL1A2*), что составило 93,9% от всех выявленных патогенных мутаций в 4 причинных генах НО. Впервые обнаружена ранее неописанная мутация с.1051G>T (p.Glu351*) в гене пролил-3-гидроксилазы-1 (*P3H1*) у пациента башкирской этнической принадлежности. В гене *IFITM5* идентифицирована мутация с.-14C>T у трех неродственных пациентов с V типом НО из Республики Башкортостан.

Значимость полученных результатов для медицинской науки и практики

Результаты исследования Зариповой А.Р. вносят существенный вклад в понимание молекулярно-генетических основ незавершенного остеогенеза и являются теоретической и методической основой для разработки научно обоснованного алгоритма ДНК-диагностики, оптимального для конкретного региона с учетом популяционных особенностей народов, проживающих в Республике Башкортостан.

На основе полученных результатов оптимизирован алгоритм диагностики незавершенного остеогенеза и создана таргетная NGS панель для анализа двух генов коллагена первого типа (*COL1A1* и *COL1A2*), что позволит проводить более эффективную ДНК диагностику заболевания. Полученные результаты имеют важное практическое значение для повышения эффективности медико-генетического консультирования отягощенных семей с незавершенным остеогенезом.

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

Работа выполнена на высоком методическом уровне, использованы современные методы молекулярно-генетического и биоинформатического анализа. Степень достоверности и воспроизводимости полученных результатов не вызывает сомнения. Все положения, выносимые на защиту, отражают основные результаты диссертации. Дизайн исследования включает в себя 4 основных этапа, которые выполнены с использованием соответствующих научно-методических подходов на репрезентативной выборке. Данные подкреплены наглядными иллюстрациями и табличными данными. Заключение и выводы в строгой логической последовательности соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования.

Результаты апробированы на 12 конференциях, в том числе международных, по теме диссертационного исследования опубликованы 17 печатных работ, в том числе 7 статей, входящих в перечень ВАК, 3 из которых индексируются в международных базах Scopus и Web of Science.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Зариповой А.Р. могут быть использованы для разработки клинических рекомендаций Министерства здравоохранения РФ для улучшения подходов ДНК-диагностики незавершенного

остеогенеза с использованием специализированных NGS-панелей и программ для биоинформатической обработки результатов массового параллельного секвенирования. Кроме того, накопленные результаты в совокупности с научным заделом по исследованию НО вносят значимый вклад в понимание молекулярно-генетических основ патогенеза НО с учетом многонациональной структуры популяции в Республике Башкортостан, что представляет большую перспективу для развития геномной медицины в области здравоохранения Российской Федерации.

Содержание диссертационной работы и ее оформление

Диссертационная работа Зариповой А.Р. оформлена в традиционном стиле. Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, содержит 38 рисунков и 29 таблиц, включая приложения. Структура диссертации классическая, работа построена из следующих разделов: оглавление, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, библиографический список и приложения. Список литературы включает 209 источников, среди них – 15 отечественных и 194 зарубежных.

Во **«Введении»** автор обосновывает актуальность темы диссертационного исследования, кратко освещает научный задел, практическую значимость и научную новизну работы, также приведены положения, выносимые на защиту. Несмотря на краткое изложение актуальности темы исследования, в главе **«Обзор литературы»** приведены клинико-эпидемиологические данные по распространенности НО, обзор литературы по генетике НО раскрывают проблематику изучения молекулярного патогенеза данного заболевания.

Глава **«Материалы и методы»** четко структурирована на подглавы, в которых планомерно описана структура выборки, методы, использованные для первичной обработки биологического материала по выделению ДНК (фенол-хлороформная экстракция), методы молекулярно-генетического анализа (ПЦР, NGS-секвенирование) и биоинформатического анализа, что в совокупности в конце главы резюмируется общим планом дизайна исследования.

В главе **«Результаты и обсуждение»** приводится подробное описание результатов диссертационного исследования. Глава состоит из 6 разделов, в которых описаны результаты молекулярно-генетического исследования ДНК пациентов и их родственников. А именно поиск и идентификация патогенных изменений нуклеотидной последовательности у пациентов с НО. В отдельные подглавы вынесены оценка спектра и частоты патогенных изменений в генах коллагена I типа и поиск мутаций в генах коллагена I типа альфа-1 цепи и альфа-2 цепи. Дополнительно описаны патогенные варианты в неколлагеновых генах, вовлеченных в развитие НО, в гене интерферон индуцированного трансмембранного белка 5 (*IFITM5*) и в гене пролил-3-гидроксилазы-1 (*P3H1*), а также патогенные изменения в генах, не вовлеченных в патогенез НО. Результаты содержат помимо патогенных вариантов и варианты с неизвестной клинической значимостью (полиморфные варианты). В отдельном разделе описывается авторская NGS-панель генов коллагена I типа.

Глава описана подробно и ёмко. Полученные результаты имеют большое теоретическое и методологическое значение для дальнейших исследований.

«**Заключение**» содержит обобщение всех полученных результатов, полученных в рамках диссертационной работы Зариповой А.Р. и описание клинической значимости исследования.

«**Выводы**» полностью соответствуют поставленным задачам исследования, обоснованы и отражают основные результаты исследования.

Работа в целом производит благоприятное впечатление, текст написан научным языком, результаты логично и последовательно приведены в полном объеме в отдельных разделах и имеют высокую ценность.

Внедрение основных результатов исследования и конкретные рекомендации по дальнейшему использованию диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Зариповой А.Р. востребованы в области медицинской генетики и представляют высокую ценность для ДНК-диагностики НО и медико-генетического консультирования отягощенных семей. Данные по патогенным вариантам генов, участвующих не только в синтезе, но и в других процессах, связанных с коллагеном, вносят большой вклад в познание молекулярного патогенеза заболевания.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В ходе анализа диссертационной работы возникли некоторые вопросы уточняющего характера и замечания:

1. Какова клиническая картина у пациентов с сочетанными мутациями? Приводит ли сочетание нескольких патогенных вариантов к более сложному фенотипическому проявлению заболевания?

2. Обобщение всех вариантов с неясной клинической значимостью под термином «полиморфные варианты» вызывает вопросы. Часть из них могут быть причинными, поскольку не встречаются в популяционных выборках, или имеют очень низкую частоту. При этом использование термина «полиморфные варианты» подразумевает их классификацию по патогенности к доброкачественным или вероятно доброкачественным генетическим вариантам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Зариповой Алии Рамилевны на тему: «Генетическая архитектура незавершенного остеогенеза», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки), является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решены актуальные научные задачи, имеющие существенное значение для медицинской генетики, а именно – идентифицированы молекулярные дефекты в генах, ответственные за развитие НО, с применением массового параллельного секвенирования; оценен спектр и частоты патогенных мутаций и полиморфных вариантов с неизвестной клинической значимостью, которые могут являться модифицирующими факторами развития НО в генах коллагена I типа, *IFITM5* и *P3H1*; определены тип наследования и формы заболевания; верифицированы найденные изменения у членов отягощенных семей с использованием секвенирования по Сэнгеру; разработан алгоритм таргетного NGS-секвенирования для диагностики НО.

По своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований, глубине анализа полученных данных и их доказательности, научной и

практической ценности выводов и практических рекомендаций, диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями), предъявляемых к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу соискателя Зариповой А.Р. обсужден и одобрен на заседании лаборатории наследственной патологии НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, протокол № 1 от «28» февраля 2023 года.

Заместитель директора по научной и лечебной работе,
руководитель лаборатории наследственной патологии
Научно-исследовательского института медицинской генетики
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
доктор медицинских наук, профессор
(1.5.7. – генетика)

Людмила Павловна Назаренко



Почтовый адрес: 634050 г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10
e-mail: ludmila.nazarenko@medgenetics.ru
Тел.: 8 (3822) 51 22 28

Подпись Л.П. Назаренко заверяю
Ученый секретарь
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»
кандидат биологических наук
Ирина Юрьевна Хитринская

03.03.2023

