

## **ОТЗЫВ**

Официального оппонента, доктора биологических наук

Глотова Андрея Сергеевича

на диссертационную работу Валовой Яны Валерьевны на тему:  
«Исследование молекулярно-генетических основ наследственного и  
спорадического рака яичников», представленной к официальной защите на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности  
1.5.7. – Генетика (биологические науки).

### **Актуальность темы выполненной работы**

Злокачественные новообразования яичников в силу их тяжелого клинического течения и высокой смертности являются одной из важнейших проблем здравоохранения практически всех стран мира. Ежегодно в мире регистрируется более 300 000 новых случаев заболевания, половина из которых заканчиваются смертельным исходом. Одним из путей снижения смертности от злокачественных новообразований яичников является разработка новых подходов к прогнозу, ранней диагностике и профилактике заболевания.

На сегодняшний день проделан большой объем работы и накоплен существенный объем знаний, позволяющих ответить на многие вопросы, связанные с этиологией и патогенезом рака этой локализации. Благодаря внедрению новейших технологий секвенирования и биоинформатического анализа данных учеными был выявлен ряд генов-кандидатов рака яичников (РЯ) и идентифицированы генетические маркеры предрасположенности к данной онкопатологии, характерные для различных популяций. Однако несмотря на определенные успехи, достигнутые в области диагностики и лечения данного заболевания показатели выживаемости все еще остаются неудовлетворительными, что диктует необходимость дальнейшего изучения этиологических факторов и патогенетических механизмов, лежащих в основе канцерогенеза яичников.

Исходя из вышеизложенного диссертация Валовой Я.В., направленная на изучение молекулярно-генетических основ рака яичников, является весьма актуальной работой, представляющей высокую научно-практическую ценность.

### Научная новизна исследования и теоретическая значимость работы

В рамках диссертационной работы Валовой Я.В. проведен поиск патогенных вариантов в 21 гене-кандидате РЯ у пациенток с признаками наследственного РЯ с помощью таргетного NGS-секвенирования с последующим биоинформатическим анализом и верификацией выявленных изменений прямым секвенированием по Сэнгеру. В результате проведенного анализа было идентифицировано 11 патогенных/вероятно патогенных вариантов и 13 вариантов неясной клинической значимости, 5 из которых ранее не были описаны (с.429G>A/*NBN*, с.3968A>G/*BRCA2*, с.1486G>C/*PALB2*, с.515T>C/*NBN*, с.1967\_1969dupGTC/*BARD1*). Впервые у пациентки с РЯ установлено сочетанное носительство двух патогенных вариантов (с.1100delC/*CHEK2* и с.2199delG/*BRCA1*).

Впервые проведена оценка частоты гетерозиготного носительства редких аллелей вероятно патогенных вариантов (с.3143delG/*BRCA1*, с.3700\_3704delGTAAA/*BRCA1*, с.2199delG/*BRCA1*, с.3751dupA/*BRCA2*, с.1187G>A/*MUTYH*, с.429G>A/*NBN*), а также вариантов неясной клинической значимости (с.5624A>C/*BRCA2*, с.3968A>G/*BRCA2*, с.1492G>A/*MRE11*, с.1480G>A/*MRE11*, с.985G>A/*MUTYH*, с.2149C>T/*ATM*, с.315G>C/*PALB2*, с.1912T>C/*NBN* и с.1967\_1969dupGTC/*BARD1*), идентифицированных в результате таргетного секвенирования, среди больных РЯ и здоровых доноров из Республики Башкортостан.

Впервые установлена, что носительство редкого аллеля полиморфного варианта rs17879749 в гене *MMP1* было ассоциировано с пониженным риском развития спорадических форм РЯ.

Впервые изучена ассоциация 10 генетических вариантов новых потенциальных генов-кандидатов РЯ и 5 полиморфных локусов генов, участвующих в репарации ДНК *ERCC2*, *ERCC3*, *XRCC2* и *XRCC3* с риском развития эпителиального РЯ у женщин из Республики Башкортостан. В результате данного этапа исследования были выявлены этноспецифичные маркеры повышенного риска развития эпителиального РЯ для лиц русской и татарской этнической принадлежности.

Впервые для жителей Республики Башкортостан построены предсказательные модели на основе выявленных молекулярно-генетических маркеров с использованием алгоритмов машинного обучения.

Полученные данные представляют интерес для понимания молекулярно-генетических механизмов формирования РЯ. Данные о распространенности редких аллелей изученных генетических вариантов могут быть полезны при разработке системы ранней диагностики заболевания в данном регионе.

### **Научно-практическая значимость работы**

Результаты диссертационной работы имеют большую научно-практическую ценность в области медицинской генетики и онкогенетики. Полученные результаты вносят вклад в общее представление о молекулярно-генетических основах РЯ и имеют важное значение для повышения эффективности медико-генетического консультирования в семьях с отягощенным анамнезом. Исходя из выводов работы в таких семьях, а также при наличии низкодифференцированной серозной аденокарциномы, необходимо проведение обязательного генетического исследования. Результаты диссертационной работы могут быть использованы при чтении лекционных курсов по медицинской генетике и онкогенетике в профильных ВУЗах, а также на курсах повышения квалификации медицинских работников.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Диссертационная работа соответствует с поставленными задачами проведена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных методов молекулярно-генетического исследования (выделение ДНК фенол-хлороформным методом, ПЦР-анализ, массовое параллельное секвенирование (NGS), секвенирование по Сэнгеру, ферментативный анализ с использованием эндонуклеаз рестрикции, ПААГ, анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM), аллель-специфичная ПЦР, высокопроизводительная ПЦР в режиме реального времени по технологии Fluidigm); биоинформатических методов анализа, включая использование разных предсказательных программ для определения, аннотации и интерпретации вариантов (Illumina Variant Interpreter, ANNOVAR и SNPeff, SIFT, PolyPhen-2, FATHMM, Mutation Assessor, MutTaster и CADD и т.д.), баз данных ClinVar, «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium; статистического анализа с использованием пакета прикладных программ обеспечения MSeXcel 2016 (Microsoft), компьютерной программы RxC (RowsxColumns) и Биометрика (Томск). В работе были применены шесть наиболее популярных и надежных алгоритмов машинного обучения при построении предсказательных моделей риска развития РЯ: 1. Дерево принятия решений (DT) 2. Случайный лес (RandomForestClassifier) 3. Логистическая регрессия 4. К-ближайших соседей (KNeighborsClassifier) 5. Метод опорных векторов (Support Vector Machines — SVM) 6. Градиентный бустинг (CatBoost) (Dhiman et al., 2022).

Высокая степень достоверности и обоснованности результатов диссертационной работы также обусловлена внушительным объемом выборки



– 313 пациенток с диагнозом «рак яичников» и 317 женщин контрольной группы.

### **Структура работы**

Диссертационная работа представлена на 260 страницах машинописного текста, построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение и выводы, и список литературы, включающего 427 источников. Иллюстративный материал содержит 36 рисунков и 41 таблицу, а также дополнен приложениями.

Во **«Введении»** автором убедительно обоснована актуальность исследуемой проблемы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Сформулированные автором задачи исследования адекватны и соответствуют поставленной цели.

В **«Обзоре литературы»** соискатель достаточно полно раскрывает вопросы эпидемиологии, этиологии и патогенеза заболевания. Раздел, посвященный описанию генетических факторов развития РЯ содержит современные данные о спектре и распространенности патогенных вариантов генов в различных популяциях. Материал изложен ясно, структурировано, хорошо иллюстрирован. К нему нет вопросов за исключением двух моментов.

В нем, как и во многих подобных разделах работ по онкогенетике отсутствуют четкие линии разграничения между механизмами развития онкологических заболеваний, которые вызываются герминальными (чему и посвящена работа) и соматическими мутациями.

Раздел 1.6 «Машинное обучение в прогнозировании риска развития РЯ» посвящен применению различных методов машинного обучения для диагностики (микроРНК), анализу ответа на терапию (варианты генов), оценки выживаемости пациентов (микроРНК), но никак не связан с прогнозом. А прогноз является главной и пока наиболее сложной задачей, необходимой для реализации ранней профилактики РЯ.

Глава **«Материалы и методы»** состоит из двух разделов, в которых подробно описаны объект исследования и используемые методы. Молекулярно-генетический анализ проведен на достаточных по объему выборках больных и сопоставимых с ними по возрасту и здоровых индивидов различной этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. Работа проведена на современном оборудовании с помощью соответствующих задачам методов и подходов молекулярно-генетических исследований.

В главе «**Результаты и обсуждение**» автором приводится детальное описание полученных в ходе исследования результатов, а также анализ собственных данных в сравнении с результатами других исследователей. К нестандартному, но интересному и важному разделу работы относится проведение сравнения группы пациенток с диагнозом «рак яичников», включенных в исследование, с выявленными мутациями и без таковых.

В «**Заключении**» автор обобщает основные результаты проведенного исследования, ключевые положения диссертационной работы изложены в полном объеме. «**Выводы**» четко отражают результаты проделанной работы и соответствуют поставленным задачам.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационной работы. Автореферат оформлен в соответствии с п.25 положения о присуждении ученых степеней.

Основные результаты диссертационного исследования представлены в 4 статьях в журналах, рекомендуемых ВАК МОН РФ, 3 из которых индексируются в международных базах Web of Science и Scopus.

### **Общие вопросы и замечания о работе**

В целом по структуре и содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет, она последовательно и логично подводит читателя к заключению и полученным выводам, которые строго соответствуют поставленным задачам. Однако имеются некоторые вопросы и замечания:

Вопросы:

- 1) Смотрели ли у 48 пациентов с клиническими формами РЯ соматические мутации? Если да, то какие, и в каком типе биоматериала?
- 2) Почему в предсказательной модели риска и прогноза РЯ из клинических данных использовали только «менопаузу»? И почему в моделях были использованы не все маркеры, выявленные у пациентов с РЯ в процессе реализации всех шагов исследования?

Замечания:

- 1) В работе не хватает обобщающей таблицы со всеми ассоциированными (и/или патогенными и вероятно патогенными) с РЯ вариантами генов и их частотами при этой патологии.
- 2) Для построения моделей использовали алгоритм «градиентный бустинг». Однако в материалах и методах перечислено, что сравнивали разные модели, но информация об этом в разделе «Результаты» не приведена.

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую оценку проделанной работы и научной ценности диссертации.

### Заключение

Диссертационная работа Валовой Яны Валерьевны «Исследование молекулярно-генетических основ наследственного и sporadического рака яичников», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 Генетика (биологические науки), является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи и ценные научно-практические сведения, имеющие важное значение для медицинской генетики и онкогенетики.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9-11, 13,14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09. 2013 г., предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор Валова Яна Валерьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

### Официальный оппонент:

Заведующий отделом геномной медицины им. В.С. Баранова Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», доктор биологических наук по специальности 03.02.07–Генетика

  
Глотов Андрей Сергеевич  
« 25 » 08 2023г.

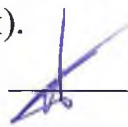
Подпись Глотова Андрея Сергеевича заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

  
  
к.м.н. Пачулия Ольга Владимировна

Согласен на сбор, обработку, хранения и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе Валовой Яны Валерьевны «Исследование молекулярно-генетических

основ наследственного и спорадического рака яичников», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

  
Глотов Андрей Сергеевич  
« 25 » 08 2023г.

Адрес места работы: 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

Должность: заведующий отделом геномной медицины им. В.С. Баранова

Телефон: +7 (812) 325-32-20

Е-mail оппонента: [anglotov@mail.ru](mailto:anglotov@mail.ru)