ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора,
заведующего лабораторией ДНК-диагностики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
на диссертацию Миловановой Анастасии Михайловны
«Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика врожденного и инфантильного нефротического синдрома», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям
14.01.08 – Педиатрия и 03.02.07 - Генетика

Актуальность темы исследования

Знание генетической причины болезни позволяет лучше понять патогенез и помогает в подборе индивидуализированного лечения, а накопление сведений о популяционных особенностях генетической структуры того или иного заболевания способствует созданию регионально ориентированных панелей NGS-тестирования, позволяющих сузить и удешевить диагностику наследственных болезней. До настоящего времени не существовало работ, систематизирующих и включающих статистически достаточные выборки детей с редкими наследственными патологиями почек, что объяснимо не только редкостью патологии, но и сложностью диагностики на амбулаторном этапе и дороговизной молекулярно-генетического тестирования.

Создание международных регистров и баз данных редких болезней позволяет странам обмениваться опытом и систематизировать библиотеки найденных патогенных нуклеотидных вариантов. Имея территориальные преимущества, Россия не входит в число лидеров по числу проведенных генетических тестов, что требует увеличения настороженности педиатров в отношении редких генетических заболеваний.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и результатов исследования

Достоверность научных положений, полученных выводов и практических рекомендаций, разработанных диссертантом в ходе исследования, подтверждается достаточным количеством клинического материала, репрезентативностью выборки, логичным дизайном исследования. В исследование включены 250 детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом, из них 99 детей с ранним дебютом заболевания.

Всем детям проведено молекулярно-генетическое исследование 200 генов, вызывающих болезни почек, методом секвенирования нового поколения. Все

выявленные нуклеотидные варианты были валидированы по Сэнгеру, при обнаружении неописанных нуклеотидных вариантов проведено обследование родителей.

Полученные результаты детально проанализированы с использованием современных методов статистической обработки материала. Следует отметить высокий методологический уровень проведенного исследования.

Результаты исследования обсуждены на различных отечественных и международных конференциях. Список публикаций по теме диссертации включает 10 печатных работ в отечественных и международных журналах.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В рамках диссертационной работы впервые в РФ проведено масштабное исследование генетических причин стероидрезистентного нефротического синдрома. На основании полученных данных сформулировано представление о генетической структуре патологии, оценены национальные особенности, выявлены мажорные нуклеотидные варианты. Всего в рамках исследования был выявлен 171 нуклеотидный вариант в 37 генах, причем отмечена большая доля нуклеотидных вариантов, не описанных в базе Humal Gene Mutation Database (HGMD) ранее (40 неописанных вариантов в генах *NPHS1, NPHS2, WT1, COL4A5, CLCN5*).

Проведено клиническое описание пациентов с различными нуклеотидными вариантами, выявлены новые клинико-лабораторные особенности детей с наследственным нефротическим синдромом.

Оценена эффективность иммуносупрессивной терапии, а также скорость прогрессирования хронической болезни почек в зависимости от возраста дебюта, поврежденного гена, морфологического диагноза. Предложены варианты оптимизации диагностической и терапевтической тактики.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа построена по общепринятому плану и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 4 глав с изложением полученных результатов, главы обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 180 страницах машинописного текста, написана грамотным научным языком с использованием соответствующей терминологии, проиллюстрирована 12 таблицами и 31 рисунком. Следует отметить наличие детально проработанного приложения с кратким описанием известных литературе генов, вызывающих

нефротический синдром и его фенокопии. Список использованной литературы включает 282 источника, преимущественно зарубежных.

Во введении обоснована актуальность темы и описана научная новизна полученных результатов.

В обзоре литературы представлены данные, посвященные клиническим, лабораторным, морфологическим и молекулярно-генетическим характеристикам врожденного и инфантильного нефротического синдрома. В отдельных подразделах приведено описание клинических и молекулярно-генетических характеристик нефротического синдрома, вызванного мутациями в генах *NPHS1, NPHS2, PLCE1, WT1, SMARCAL1, LMX1B, CUBN, CRB2.*

В главе, посвященном материалам и методам, подробно расписаны критерии включения детей, а также приведено описание использованных методик молекулярно-генетического исследования.

В главах 3, 4 и 5 описаны результаты с описанием особенностей врожденного, инфантильного нефротического синдрома и стероидрезистентного нефротического синдрома с возрастом дебюта старше 1 года соответственно. Глава 6 содержит сравнение клинических, лабораторных и молекулярно-генетических характеристик в группах с различным возрастом дебюта заболевания.

Обсуждение результатов представлено в главе 7, где проведен анализ и сравнение полученных данных с результатами зарубежных ученых.

Результаты, полученные в ходе исследования, послужили основой для формулирования выводов и практических рекомендаций, которые в полной мере соответствуют поставленным цели и задачам.

Введение, основные положения, результаты собственных исследований и методология их анализа нашли отражение в автореферате, который дает полное представление о работе и соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Основные результаты диссертации представлены в 10 печатных работах, из них 3 статьи – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных исследований.

Вопросы и замечания

Следует отметить, что рукопись выполнена на высоком методологическом уровне, содержит достаточное количество подробного иллюстративного материла.

Однако, имеются некоторые вопросы и замечания.

Так на стр. 22 указано, что «открытие технологии секвенирования нового поколения (next generation sequencing – NGS) позволило расширить применение

генетического тестирования …». Здесь допущена явная стилистическая ошибка, поскольку новые технологии не открываются, как природные закономерности, а разрабатываются, создаются и внедряются.

В разделе Материалы и методы на стр. 50 указано, что валидацию выявленных вариантов проводили методом секвенирования по Сэнгеру с использованием праймеров на ДНК фага М13. Это положение вызывает явное недоумение и требует разъяснений, поскольку данный подход был актуален до широкого внедрения ПЦР и утратил свою актуальность в конце прошлого века.

Ну и наконец, в ходе работы выявлен 171 вариант в 37 генах. Однако ни в тексте рукописи, ни в приложениях к ней не удалось обнаружить списка выявленных вариантов и их подробной характеристики. Наверное, хотя бы те из них, которые были расценены как патогенные, или вероятно патогенные, стоило бы вынести в отдельное приложение. Такое приложение значительно увеличило бы информативность рукописи при обращении к ней профессионалов и повысило бы степень доказательности проведенного исследования.

Хочется заметить, что сделанные замечания не влияют на характеристику работы в целом, не являются принципиальными и не влияют на сделанные в ходе работы выводы.

Заключение

Суммируя вышесказанное, следует отметить, что диссертация Миловановой Анастасии Михайловны «Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика врожденного и инфантильного нефротического синдрома», выполненная под руководством д.м.н., проф. Цыгина Алексея Николаевича и д.б.н. Савостьянова Кирилла Викторовича, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной клинической и научной задачи - усовершенствование диагностических и терапевтических алгоритмов при наследственном нефротическом синдроме. В работе содержатся результаты масштабного молекулярно-генетического обследования детей с наследственным нефротическим синдромом, а выводы, полученные в ходе работы, направлены на оптимизацию существующих на сегодняшний день алгоритмов диагностики и терапии детей с врожденным и инфантильным нефротическим синдромом. Работа обладает высоким уровнем научной новизны, теоретической и практической значимости.

Работа Миловановой Анастасии Михайловны соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым Министерством науки и

высшего образования Российской Федерации к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Милованова Анастасия Михайловна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.08 – Педиатрия и 03.02.07 – Генетика.

Официальный оппонент:
Доктор биологических наук (03.02.07 - Генетика),
профессор, член-корреспондент РАН,
заведующий лабораторией ДНК-диагностики
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова» Поляков Александр Владимирович

Подпись доктора биологических наук
Полякова А.В. удостоверяю
Ученый секретарь ФГБУ «Медико-генетический научный центр имени академика
Н.П. Бочкова» к.м.н. Воронина Е.С.

115522, Москва,
ул. Москворечье, д. 1
Тел: +7 (495) 111-03-03,
www.med-gen.ru

«26» апреля 2022