ОТЗЫВ

официального оппонента заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора, член-корреспондента РАН, заместителя директора по научно-клинической работе, заведующей лабораторией генетической эпидемиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Зинченко Рены Абульфазовны

на диссертацию Симонова Максима Викторовича

на тему «Генотип-фенотипические особенности муковисцидоза у детей из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. Педиатрия и 1.5.7. Генетика

Актуальность темы диссертации

Диссертация Симонова Максима Викторовича посвящена изучению самого частого орфанного заболевания – муковисцидозу, который является актуальной проблемой детской пульмонологии и клинической генетики. В работе изучались вопросы особенностей генотипа и фенотипа пациентов с муковисцидозом из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа.

Отмечается высокий интерес к изучению данного заболевания. У пациентов с муковисцидозом имеется разнообразие спектра и частот патогенных вариантов гена *CFTR*, при этом ежегодно выявляются минорные варианты гена *CFTR*, которые также могут вызывать заболевание, а также варианты с неопределенной клинической значимостью.

Ген *CFTR* впервые был открыт в 1989 году. К настоящему времени описано более 45 тысяч различных полиморфных генетических вариантов гена *CFTR*, при этом в различных базах данных описано около 1673 патогенных варианта, вызывающих муковисцидоз. Наиболее частым патогенным вариантом в мире является *c.1521_1523del, p.Phe508del*, который представляет собой делецию без сдвига рамки считывания. Однако современные достижения в области изучения молекулярно-генетических аспектов муковисцидоза позволили установить, что определенная доля патогенных вариантов гена *CFTR* может встречается в мире с частотой не выше 0,1%, а в определенных популяциях и субъектах их частота может превышать более 1%.

Определение молекулярно-генетических особенностей в популяции среди российских пациентов с муковисцидозом проводилась неоднократно, в том числе и среди пациентов Северо-Кавказского федерального округа.

Согласно данным регистра пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации, число пациентов в Северо-Кавказском федеральном округе увеличивается ежегодно, особенно среди пациентов из Чеченской Республики, что безусловно предполагает изменение спектра частот аллелей и генотипов гена *CFTR* и выявление новых вариантов в данном регионе Российской Федерации. При этом, как правило, у пациентов Северного Кавказка были описаны наиболее частые патогенные варианты гена *CFTR*, без проведения анализа взаимосвязи генотип-фенотип.

Внедрение таргетной/патогенетической терапии в 2012 году в мире для наиболее частого варианта *c.1521_1523del, p.Phe508del* позволило не только улучшить качество оказания медицинской помощи пациентам с муковисцидозом, но и открыло множество новых аспектов данного заболевания. С помощью метода определения разницы кишечных потенциалов и на модели кишечных органоидов, имеющих варианты [*c.1399C>T;1521_1523del, p.Leu467Phe;Phe508del/c.3476C>T, p.Ser1159Phe*], установлено, что данные варианты приводят к полной утрате функциональной активности белка CFTR и отсутствию его эффективного восстановления при воздействии не только препаратом «Ивакафтором», но и другими, более эффективными комбинациям CFTR-модуляторов.

Обращает на себя внимания и тот факт, что в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные о возможностях применения таргетной терапии у пациентов из Северо-Кавказского федерального округа, в частности у которых наиболее частым вариантом является *c.1545_1546del, p.Tyr515** (нонсенс-мутация), который не подходит для назначения таргетной терапии.

Необходимость изучения возможностей применения таргетной терапии, особенностей генотипа и фенотипа, а также их генотип-фенотипических корреляций у пациентов из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа определяет актуальность работы Симонова М.В. и ее большое практическое значения для педиатрии.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и результатов исследования

В диссертационной работе на основании анализа отечественной и зарубежной литературы Симоновым М.В. четко сформулированы цели и задачи исследования. Установленные задачи соответствуют цели научной работы – определение клинических и молекулярно-генетических особенностей муковисцидоза и возможностей применения патогенетической терапии у детей из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа.

Научное исследование представляет собой ретроспективно-проспективное нерандомизированное неконтролируемое исследование, в которое были включены 152 пациента. Ретроспективная часть исследования

включала 111 пациентов, госпитализированных в пульмонологическое отделение ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России в период с января 2012 года по август 2022 года в возрасте от 2 мес до 17 лет 11 месяцев с установленным диагнозом муковисцидоз. Проспективная часть исследования включала 41 пациента в возрасте от 2 месяцев до 17 лет 11 месяцев с установленным диагнозом муковисцидоз в период с сентября 2022 года по февраль 2025 года. 35 детей оценивались в динамике каждые 6-12 месяцев.

В ходе диссертационного исследования был проведен детальный анализ результатов молекулярно-генетического исследования и клинической картины муковисцидоза у пациентов в ретроспективной части. В проспективной части проведена большая работа в виде введении пациентов, назначении всех диагностических мероприятий, в том числе и генетического исследования, анализ генотип-фенотипических особенностей.

Достоверность результатов научного исследования подтверждает и тот факт, что поиск нуклеотидных вариантов осуществлялся методом массового параллельного секвенирования гибридизационной таргетной панели, включающей в себя всю последовательность гена *CFTR*, в том числе некодирующие и фланкирующие области. Все каузальные нуклеотидные варианты были валидированы при помощи секвенирования методом Сэнгера и описаны согласно номенклатуре HGVS. Полученные данные обработаны с использованием современных методов статистики.

Научная новизна и практическая значимость исследования

Автором был проведен детальный анализ клинической картины и результатов молекулярно-генетического исследования с целью определения генотип-фенотипических особенностей муковисцидоза у детей из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа.

Наиболее значимым результатом работы является впервые описанные для Российской Федерации три патогенных варианта гена *CFTR c.433del, p.Leu145Phefs*8*; *c.2537G>A, p.Trp846** и *c.1135G>T, p.Glu379**, обусловливающие «тяжелый» фенотип, один из которых не был описан ранее в зарубежных источниках литературы. Для пациентов из Республики Дагестан и Кабардино-Балкарской Республики впервые определены иные наиболее часты патогенные варианты гена *CFTR*.

Установленная частота мажорных вариантов гена *CFTR* в Чеченской Республике (92,3%), в Карачаево-Черкесской Республике (78,5%), в Республике Ингушетия (100%), в Республике Северная Осетия-Алания (77,8%) и в Кабардино-Балкарской республике (60%). На основании данных результатов был предложен оптимизированный алгоритм молекулярно-генетической диагностики, который позволяет определить молекулярно-генетическую причину заболевания при диагностике этих вариантов в данных субъектах Северо-Кавказского федерального округа с вероятностью 92,3%,

78,5%, 100%, 77,8% и 60% соответственно. Данный алгоритм имеет не только практическую значимость, но и важен с экономической точки зрения, предлагая начинать молекулярно-генетическое исследование пациентов в Чеченской Республике, в Карачаево-Черкесской Республике, в Республике Ингушетия, в Республике Северная Осетия-Алания и в Кабардино-Балкарской республике с выявления мажорных патогенных вариантов гена *CFTR* методом ПЦР в режиме реального времени.

На основании анализа генотип-фенотипических корреляций было определено, что наличие патогенного варианта *c.274G>A, p.Glu92Lys* в гомо- и компаунд гетерозиготном состоянии сопровождается в большинстве случаев ложноотрицательным результатом неонатального скрининга, что поможет улучшить медико-генетическое консультирование.

Важным аспектом является анализ возможностей применения таргетной терапии. Установлен процент пациентов, которым показано назначение патогенетической терапии, в каждой республике. Показано, что в Республике Ингушетия все пациенты имеют патогенный вариант I класса, что делает применение патогенетической терапии на данный момент невозможным. Данные результаты позволяют не только определить число пациентов которым показано назначение данной терапии, но и дает возможность уже сейчас повысить информированность врачей о возможностях применения патогенетической терапии, в частности с расчетом на перспективу для пациентов с вариантом *c.3196C>T, p.Arg1066Cys*.

Проведенная клиническая и молекулярно-генетическая характеристика пациентов с муковисцидозом из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа позволила оптимизировать алгоритм молекулярно-генетической диагностики и разработать протокол терапевтического ведения, с учетом патогенетической терапии.

Результаты работы внедрены в клиническую практику пульмонологического отделения и в педагогическую практику и учебный процесс кафедры педиатрии и общественного здоровья, а также в работу лаборатории медицинской геномики Медико-генетического центра ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, в работу педиатрического отделения РДКБ, Москва и пульмонологического отделения РДКБ им. Глинки, г. Грозный. Результаты исследования используются в педагогической практике и внедрены в учебный процесс кафедры педиатрии и детской ревматологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (лекционный курс программ высшего образования (специалитета, ординатуры), программ повышения квалификации и профессиональной переподготовки «Педиатрия»).

Оценка содержания и оформления работы

Диссертационная работа написана в классическом стиле, хорошим литературным языком, изложена на 201 странице машинописного текста, иллюстрирована 61 таблицей, 115 рисунками и 5 клиническими примерами. Список литературы включает 131 источник: 67 отечественных и 64 зарубежных. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 3 глав результатов научной работы, заключения, выводов и практических рекомендаций.

Во введении обоснована актуальность работы, ее цель и задачи, положения, выносимые на защиту, научная новизна, а также личный вклад автора в диссертационное исследование и ее практическую значимость.

Обзор литературы предельно точно отражает актуальность и проблему муковисцидоза, с акцентами на проблемы пациентов из Северо-Кавказского федерального округа. Достаточно подробно описаны современные аспекты и генетика муковисцидоза. Представлены данные о современных подходах диагностики и лечения муковисцидоза.

Диссертантом представлен четко сформулированный дизайн исследования, отражающий полное понимание каждого этапа научной работы. Детально дано описание исследуемой группы, проведена их характеристика, а также клинико-лабораторных, инструментальных методов и методов статистического анализа.

В 3-х главах собственных результатов подробно описаны результаты молекулярно-генетического исследования всей наблюдаемой группы, выявленные патогенные варианты описаны согласно номенклатуре HGVS. Подробно проведен анализ клинической картины, как всего федерального округа, так и каждого субъекта Северо-Кавказского федерального округа. На основании полученных данных проведена сравнительная оценка генотипа и фенотипа обследуемых детей с пациентами, проживающими в других регионах, согласно данным Регистра пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации.

В пятой главе описаны возможности применения таргетной терапии, установлено число пациентов, которым показана терапия и представлена оптимизация алгоритма молекулярно-генетической диагностики и протокола терапевтического ведения пациентов с муковисцидозом из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа.

Главы с результатами собственного исследования диссертанта написаны достаточно подробно, имеют понятные и информативные таблицы и рисунки. Приведены развернутые клинические примеры, в которых показано тяжелое течение некоторых пациентов, проиллюстрированы гистологические исследования и доказана эффективность таргетной терапии препаратом «Элексакафтор/Тезакафтор/Ивакафтор» в виде снижения результатов потового теста, улучшением ключевых показателей спирометрии и нутритивного статуса.

Результаты, полученные в ходе проведенного диссертационного исследования, послужили основой для формирования соответствующих выводов и практических рекомендаций, которые полностью соответствуют поставленной в работе цели и задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Введение, основные положения, результаты собственных исследований и методология анализа, а также выводы и практические рекомендации достаточно четко отражены в автореферате, соответствуют основному тексту, что дает полное представление о проведенном научном исследовании и соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Вопросы и замечания

Вопрос: В работе поиск нуклеотидных вариантов осуществлялся методом массового параллельного секвенирования гибридизационной таргетной панели, включающей в себя всю последовательность гена *CFTR*, в том числе не кодирующие и фланкирующие области. Какое практическое значение для проведенной научной работы дал поиск патогенных вариантов в фланкирующих областях гена *CFTR*?

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Симонова М.В. нет.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Симонова Максима Викторовича на тему: «Генотип-фенотипические особенности муковисцидоза у детей из различных субъектов Северо-Кавказского федерального округа», выполненная в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит решение важной научной задачи по оптимизации молекулярно-генетического исследования и лечения пациентов с муковисцидозом, этногеографически относящихся к Северо-Кавказскому федеральному округу. Результаты работы помогут улучшить медико-генетическое консультирование, предотвратить развитие электролитных нарушений и других выявленных осложнений муковисцидоза, повысить информированность врачей о фенотипических и генетических особенностях и возможностей применения патогенетической терапии. Полученные результаты представляются значимыми для педиатрии и генетики.

Диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции), предъявляемым Министерством науки и высшего образования Российской Федерации к квалификационным научным исследованиям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Симонов Максим Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. Педиатрия, 1.5.7. Генетика.

Официальный оппонент

Заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук (1.5.7. – Генетика), профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научно-клинической работе, заведующая лабораторией генетической эпидемиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Зинченко Рена Абульфазовна

Подпись д.м.н., профессора, член-корреспондента РАН Зинченко Р.А. заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ «МГНЦ» к.м.н.

Воронина Екатерина Сергеевна

(Гербовая печать)

Дата 11.04.2025

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», 115478, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1, телефон +7 (499) 612-86-07, Email: mgnc@med-gen.ru, сайт: https://www.med-gen.ru