

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Пятницкого Михаила Алексеевича
«Высокопроизводительное секвенирование в молекулярной онкологии:
поиск мишеней и стратификация пациентов для персонализации
противоопухолевой терапии», представленную на соискание ученой степени
доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая
биология, биоинформатика.

Применение технологий высокопроизводительного секвенирования ДНК (Next Generation Sequencing, NGS) предоставило беспрецедентные возможности для понимания биологических основ различных типов опухолей, обнаружения геномных и транскриптомных биомаркеров лекарственной устойчивости, а также для принятия клинических решений в отношении лечения пациентов. Помимо этого, универсальность технологии NGS в дополнение к разнообразным методам пробоподготовки образцов позволила всесторонне охарактеризовать не только раковые геномы, но также и транскриптомы и эпигеномы. Так методы NGS могут быть использованы для выявления точечных замен и инделов, определения изменения копийности генов и структурных перестроек в образцах ДНК опухоли. Секвенирование РНК, полученной из опухоли, позволяет идентифицировать дифференциально экспрессируемые гены, aberrантно сплайсированные изоформы и т.д. Химические модификации ДНК и/или гистонов также могут быть картированы с помощью NGS. Анализ и интерпретация результатов NGS, в том числе для клинических приложений, представляет собой серьезную проблему, которая на сегодняшний день не имеет общепризнанного решения. Помимо того, что изучение каждого класса генетических aberrаций требует

отдельного вычислительного подхода, дополнительным фактором является наличие сложной генетической архитектуры мультиклональных опухолей. Таким образом, тема диссертационной работы М.А. Пятницкого, посвященной вычислительным методам анализа результатов высокопроизводительного секвенирования геномов и транскриптомов опухолевых клеток, несомненно, является весьма актуальной.

Диссертационная работа М.А. Пятницкого состоит из 239 страниц машинописного текста. Структурно работа разделена на несколько разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», четыре главы с результатами и их обсуждением, «Заключение», «Выводы», «Список литературы», «Приложение». Работа проиллюстрирована 57 рисунками и включает 23 таблицы. Список цитируемой литературы содержит 446 источников.

Основной текст диссертации открывается разделом «Введение», состоящим из общепринятых блоков актуальности тематики, формулировки целей и задач исследования, указания личного вклада автора работы, выносимых на защиту положений работы, научной и практической ценности диссертации, сведений об апробации работы на конференциях и конгрессах, публикационной активности автора.

Обзор основных опубликованных результатов по тематике работы приведен в первой главе. Первая часть обзора даёт полноценное представление о существующих методах по выявлению критически важных генов. Вторая часть посвящена системно-биологическим методам анализа омиксных данных включая относительно малораспространённые методы (транскриптомные функциональные карты, выявление регуляторов экспрессии). В последнем разделе описаны современные наработки по анализу и интерпретации геномных вариантов. Мне представляется целесообразным переработать указанный раздел в полноценный обзор, поскольку в

русскоязычной научной литературе наблюдается недостаток публикаций на эту тематику.

В третьей главе автор представляет интересный подход к поиску белков, критически важных для выживания опухолевых клеток, основанный на аналогии с известной работой А.Вальда о систематической ошибке выжившего. Указанный метод использует данные о соматических мутациях, что делает его потенциально применимым к различным типам тканей. К достоинствам работы также стоит отнести проведение экспериментальных проверок сделанных предсказаний относительно критически важных белков на клеточной культуре меланомы.

В четвёртой главе диссертации соискатель описывает сформулированный им подход к биологически мотивированному кластерному анализу транскриптомных профилей. Отдельный интерес представляет детально проработанная методика сравнительной проверки результатов, показавшей преимущество вновь разработанного метода. Также необходимо подчеркнуть, что вышеуказанный метод был успешно запатентован.

Пятая глава работы посвящена анализу генома и транскриптома опухолевых клеток по результатам общебиологической и клинической аннотации с помощью разработанного программного обеспечения. Показаны примеры визуализации задействованных сигнальных каскадов, совмещённых с данными по найденным мутациям. Плюсом этого раздела работы является использование полноэкзомного секвенирования образцов опухоли, проведённого в рамках представленного исследования, а не ре-анализ уже существующих открытых данных.

Наконец в шестой главе Пятницкий М.А. описывает зарегистрированное им программное обеспечение (веб-платформу) для автоматической клинической интерпретации молекулярного профиля онкологического

пациента. К достоинствам веб-платформы можно отнести поддержку разных типов молекулярно-генетических анализов и не ограниченную только результатами секвенирования систему уровней доказательности биомаркеров, а также простоту и дружелюбность интерфейса пользователя. Всё вышеперечисленное делает разработанную веб-платформу хорошим кандидатом для практического использования в специализированных лечебных учреждениях.

В конце работы присутствуют разделы «Заключение» и «Выводы», которые обоснованно следуют из полученных результатов.

Результаты работы имеют очевидное практическое применение в области разработки лекарств и прецизионной онкологии. Разработанные автором подходы к анализу результатов секвенирования геномов и транскриптомов опухоли позволяют вплотную подойти к проблеме оптимизации стратегии противоопухолевой терапии, тем самым реализуя принципы персонализированной медицины. Не вызывает сомнения, что стремительное внедрение технологий NGS в клиническую практику будет этому способствовать.

Необходимо отметить, что материалы диссертации М.А. Пятницкого адекватно отражены в автореферате и 46 публикациях, в числе которых 24 статьи, опубликованные в научных изданиях, входящих в список рекомендуемых ВАК и базы цитирования Web of Science и Scopus.

Существенные недостатки у работы Пятницкого М.А. отсутствуют, однако имеется несколько отдельных замечаний и предложений:

1) Описанные в главе 3 полученные соискателем *in silico* результаты поиска критически важных для меланомы генов прошли частичную экспериментальную проверку, показавшую низкую эффективность разработанного и примененного соискателем алгоритма поиска. Нет

сомнений, что оригинальные идеи, предложенные в диссертационном исследовании, были достойны реализации и проверки, однако, учитывая довольно слабый полученный результат, возникает вопрос, почему не были реализованы, казалось бы, более очевидные подходы к поиску критически важных генов – по результатам транскриптомных, эпигеномных и протеомных исследований, данные которых в большей степени отражают молекулярный фенотип опухоли, чем косвенные представления, основанные на систематической ошибке выжившего.

2) В главе 5 было бы уместно обсудить ограничения использования экзомного секвенирования для поиска соматических генетических вариантов в материале опухоли с учетом генетической гетерогенности опухолевого образца. В исследовании достигнута более чем 100-кратная (точные данные не приведены) глубина покрытия прочтениями. По оценке Coverage Limit Calculator (<http://app.olgen.cz/clc>), 100-кратная глубина покрытия позволяет надежно определять варианты с аллельной частотой в образце не ниже 14%, что накладывает ограничение на использование экзомного секвенирования, по крайней мере, в диагностической практике в онкологии.

Высказанные замечания и пожелания никак не влияют на общую высокую оценку работы и не снижают ее научной и практической ценности.

Диссертационная работа Пятницкого Михаила Алексеевича «Высокопроизводительное секвенирование в молекулярной онкологии: поиск мишеней и стратификация пациентов для персонализации противоопухолевой терапии» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, в ходе которой получены новые научно обоснованные решения, внедрение которых имеет существенное научное и практическое значение для биоинформатики и молекулярной онкологии. Таким образом диссертационная работа полностью отвечает всем требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней»

№842 от 24 сентября 2013 г. с последними изменениями в редакции от 11 сентября 2021г. №1539, а ее автор, Пятницкий М.А., достоин присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика.

Заведующий лабораторией эпигенетики
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,

профессор кафедры общей и медицинской
генетики ГБОУ ВПО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет
имени Н.И.Пирогова» Минздрава России,

доктор биологических наук,

Стрельников Владимир Викторович



30.09.2022 г.

/ Стрельников В.В. /

«Подпись В.В. Стрельникова заверяю»

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного
научного учреждения
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,

кандидат медицинских наук,

Воронина Екатерина Сергеевна



Воронина Е.С. /

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Адрес: 115522, Москва, ул. Москворечье, дом 1

Телефон: +7 (499) 612-86-07

Электронная почта: mgnc@med-gen.ru