

О Т З Ы В

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

Диссертационная работа Михаила Алексеевича Пятницкого представляет фундаментальное исследование по поиску мишеней противоопухолевой терапии на основе экспериментальных данных высокопроизводительного секвенирования.

Актуальность темы диссертации

Высокопроизводительное секвенирование ДНК в настоящее время широко применяется как в исследовательских целях, так и в клинической диагностике, представляя новые экспериментальные данные для изучения этиологии рака, идентификации биомаркеров, прогнозирования реакции пациентов на терапию. Компьютерные методы обработки накопленного массива данных образцов различных типов опухолей, системно-биологический анализ данных открывают широкие возможности для решения фундаментальных и прикладных вопросов, включая выявление уязвимых мест генома и протеома опухолей, определение мутационных паттернов, эффективную стратификацию пациентов, разработку новых диагностических и терапевтических подходов в онкологии. Таким образом, тема представленной М.А. Пятницким диссертации является актуальной.

Структура и общие сведения о диссертации

Работа М.А. Пятницкого изложена на 239 страницах машинописного текста и состоит из введения, основного текста работы (состоящего из шести

глав), заключения, выводов и перечня литературы, включающего 446 источников. Диссертация проиллюстрирована 57 рисунками и 23 таблицами.

В разделе «Введение» автор подчеркивает высокую актуальность избранной темы исследования, кратко характеризует основные научные и прикладные задачи молекулярной онкологии. Далее в разделе приведены цели и задачи работы, указаны основные положения, выдвигаемые на защиту, подчеркивается научная новизна и практическая значимость исследования. В этом разделе описан личный вклад соискателя, приводятся данные о публикациях и научных докладах, апробации работы.

Содержание диссертационной работы

Обзор литературы по теме исследования представлен в первой главе диссертационной работы. Автором описывается актуальное состояние нескольких крупных направлений исследований в научном и практическом применении технологий высокопроизводительного секвенирования. М.А. Пятницкий описывает современные экспериментальные и вычислительные методы идентификации критически важных генов в раковом геноме. Затем даётся обзор основных системно-биологических методов по анализу транскриптомных профилей, включая алгоритмы объединения омиксных данных. В последнем разделе литературного обзора обсуждается текущее состояние по вопросам внедрения геномных и транскриптомных биомаркеров в практическую онкологию, а также подходы к интерпретации результатов секвенирования генома опухоли.

Вторая глава диссертационной работы посвящена описанию исходных геномных и транскриптомных данных, даёт исчерпывающее представление о разработанных алгоритмах и их параметрах. В частности, приведены таблицы, показывающие модель хранения данных в созданной автором платформе по клиническому анализу результатов секвенирования геномов. Детально описаны экспериментальные методики по работе с клеточными культурами меланомы и высокопроизводительному секвенированию образцов колоректального рака и гепатоцеллюлярной карциномы.

Основные результаты диссертации описываются и обсуждаются в

третьей главе, где представлен новый подход к идентификации ключевых белков в протеоме опухоли, чья активность необходима для функционирования раковых клеток. Оригинальная идея метода связана с изучением так называемой “ошибки выжившего” - анализ обедненных соматическими патогенными мутациями генов может указать на белки, являющиеся критически важными для выживания раковых клеток. В результате анализа большой выборки по соматическим и герминативным генетическим вариантам, автором получен список белок-кодирующих генов, которые критически важны для выживания клеток меланомы. Был обнаружен и проинтерпретирован интересный феномен, заключающийся в статистически достоверном обогащении списка белками плазматической мембраны.

В четвёртой главе работы М.А. Пятницкого представлен новый метод стратификации пациентов путем выявления активированных регуляторов генной экспрессии. Важной особенностью разработанного подхода является детекция именно регуляторных межгенных взаимодействий, а не набора дифференциально экспрессированных генов, которые зачастую слабо воспроизводимы. На примере анализа транскриптомного профиля образцов кишечника, автору удалось показать эффективность разработанного алгоритма, а также продемонстрировать применимость метода для выявления тонкой структуры молекулярных механизмов ответа на терапию цетуксимабом.

Пятая и шестая главы диссертационной работы логически взаимосвязаны между собой, описывая разработку и применение программной системы по автоматическому анализу генетических вариантов с целью оптимизации противоопухолевой терапии. На первом этапе автором был разработан программный конвейер по аннотации генетических вариантов, интегрирующий различные сторонние ресурсы и базы данных. Приводятся примеры аннотации образцов полноэкзомного секвенирования образцов колоректального рака и гепатоцеллюлярной карциномы, доказывающие пригодность подхода для идентификации клинически значимых мутаций. В разделах шестой главы описывается созданная под

руководством Пятницкого М.А. интернет-платформа для автоматической интерпретации молекулярного профиля онкологического пациента. В тексте работы приводятся типовые сценарии работы с платформой, описывается структура базы данных биомаркеров и интерфейс пользователя. Подробно описан функционал вычислительного ядра системы, включающий контроль качества результатов высокопроизводительного секвенирования, фильтрацию и аннотацию генетических вариантов, расчет мутационной нагрузки опухоли.

Научная новизна и практическая значимость

Научная новизна работы состоит в разработке новых подходов к решению двух задач. Во-первых, это идентификация так называемых незаменимых генов, чья потеря может привести к летальности отдельных типов клеток или всего организма. Поиск таких генов не только помогает понять требования к минимальному геному для клеточной жизни, но также играет важную роль в открытии генов, ассоциированных с болезнями человека. Важным практическим применением этой задачи является то, что белки, кодируемые незаменимыми генами, потенциально являются мишенями для вновь создаваемых лекарственных средств. М.А. Пятницким разработан новый метод идентификации незаменимых генов, проанализированы данные по мутациям, встречающимся в клетках меланомы.

Вторая задача — это разделение когорты пациентов на отдельные подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия определенных характеристик заболевания, в том числе молекулярных. Корректная стратификация пациентов способствует определению специфических патогенетических механизмов для определённого подтипа заболевания, и может помочь врачам адаптировать терапевтические вмешательства и режим лечения для отдельных групп пациентов. Автором разработан и запатентован новый метод, позволяющий стратифицировать образцы пациентов, для которых доступен транскриптомный профиль. Продемонстрирована применимость этого алгоритма для высокоточной стратификации пациентов, а также показан пример анализа механизмов резистентности колоректального рака к анти-EGFR терапии.

Наибольшую практическую значимость имеет раздел работы, посвящённый созданию программного обеспечения для автоматической клинической интерпретации молекулярного профиля пациента, в первую очередь – спектра генетических вариантов опухоли. М.А. Пятницким описаны примеры использования разработанной системы для оптимизации схем противоопухолевой терапии для колоректального рака и гепатоцеллюлярной карциномы. Такое комплексное решение позволяет на практике применять принципы персонализированной медицины в онкологии, тем самым способствуя повышению эффективности лечения. Сама программная система внесена в государственный реестр программ для ЭВМ.

Степень обоснованности и достоверность научных результатов, выводов и рекомендаций

Выводы диссертации, а также основные положения, выносимые на защиту, хорошо обоснованы и следуют из результатов проведенных исследований, опубликованных в рецензируемых международных и российских научных журналах. Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне использованием современных вычислительных и экспериментальных подходов. В работе анализируются выборки большого объема, используются адекватные задачам статистические методы обработки данных. Достоверность представленных научных результатов не вызывает сомнений.

Основные направления исследований Михаила Алексеевича Пятницкого включают в себя современные научные направления по специальности «математическая биология, биоинформатика», такие как интегративный анализ омиксных данных, протеогеномика, поиск биомаркеров и активированных регуляторов генной экспрессии, персонализированная медицина и прецизионная онкология.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 46 работ, в том числе 24 статьи в российских и международных рецензируемых научных изданиях, а

также три главы в коллективных монографиях. По итогам работы получен один патент, а также свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ.

Оценка содержания диссертации в целом, замечания и вопросы по диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Полученные М.А. Пятницким результаты не вызывают сомнений, выводы работы подкреплены результатами экспериментов *in silico* и *in vitro*, и являются обоснованными. Материалы автореферата соответствуют основным положениям диссертации.

К работе есть несколько замечаний.

Есть жаргонизмы в терминологии - набор англицизмов, таких как хотспот, бэкенд.

Вопрос: Проводился ли анализ - насколько данный алгоритм чувствителен к количеству пациентов, т.е. какое минимальное количество пациентов необходимо для корректной работы алгоритма?

Необходимо варьировать алгоритмы кластерного анализа для оценки влияния параметров.

Возможно ли применение данного алгоритма для стратификации пациентов с диагностированными заболеваниями другого типа (например, заболевания кожи)?

Заключение

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. По своей актуальности, объёму выполненных работ, научной и практической значимости диссертация полностью

соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 с последними изменениями в редакции от 11 сентября 2021г. №1539, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Михаил Алексеевич Пятницкий, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор РАН
Профессор кафедры информационных и интернет-технологий (КИИТ)
Института цифровой медицины, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Орлов Юрий Львович



«03» октября 2022 г.

Контактные данные:

тел.: +7(495)6091400; e-mail: y.orlov@sechenov.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.01.09 – «Математическая биология, биоинформатика»

Адрес места работы:

119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Тел./факс +7(499)2480181; rektorat@sechenov.ru; <https://www.sechenov.ru/contacts/>

Подпись Орлова Ю.Л. заверяю

