



директор ИОГен

д.б.н., чл.-корр. РАН

А.М. Кудрявцев

« 30 » сентября 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
на диссертационную работу Пятницкого Михаила Алексеевича на тему:
«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.**

Актуальность темы исследования

За последние несколько лет было сделано много значительных достижений в области генетики рака, чему способствовало резкое снижение стоимости секвенирования ДНК благодаря быстрому развитию технологий (Next Generation Sequencing, NGS). Публикация результатов международного проекта «The Cancer Genome Atlas» побудила многих исследователей представить клиническую интерпретацию данных о геноме опухоли как следующий логический шаг в терапии рака. Исходя из этого видения, был

введён термин «прецизионная онкология», чтобы проиллюстрировать новизну и эффективность такого индивидуального подхода. Основное предположение прецизионной онкологии заключается в том, что молекулярные маркеры, обнаруженные с помощью NGS, будут предсказывать ответ на таргетную терапию независимо от гистологии опухоли. Несмотря на трудности связанные со сложностями изучения гетерогенных мультиклональных опухолей, несомненна важность результатов NGS-анализа для трансляционных исследований и рационального дизайна клинических испытаний. Исходя из вышесказанного можно заключить, что актуальность темы диссертационной работы М.А. Пятницкого, посвященной интерпретации результатов высокопроизводительного секвенирования геномов и транскриптомов опухолей (в том числе для нужд прецизионной онкологии), не вызывает сомнения.

Структура и основное содержание работы

Диссертационная работа Пятницкого М.А. логически состоит из трёх частей: выявление уязвимых точек в раковом протеоме, стратификация транскриптомных профилей и анализ молекулярно-генетических aberrаций для персонализированного подбора терапии. Каждая часть работы излагается в отдельной главе, за исключением последней части, которая состоит из двух глав. В конце каждой главы приводится краткое резюме полученных результатов, обсуждаются возможные ограничения методов, намечаются перспективы дальнейшего развития предложенных подходов.

Раздел «Введение» построен по классической схеме. Автор аргументирует актуальность выбранной темы диссертационной работы, описывая различные методы использования массивов данных о молекулярно-генетических aberrациях (полученных с применением методов NGS) для развития новых стратегий борьбы со злокачественными новообразованиями. Далее излагается цель и задачи исследования, отмечается научная новизна и практическая значимость полученных результатов, указан личный вклад

автора. Завершает раздел перечень положений, выдвигаемых на защиту, а также информация об апробации работы и публикациях автора по теме диссертации. Иллюстративный материал диссертации включает в себя 57 рисунков и 23 таблицы.

Первая глава, «Обзор литературы», состоит из трёх подразделов, каждый из которых освещает актуальные достижения в одной из областей, рассматриваемых в работе далее. Так в подразделе 1.1 дан обзор существующих экспериментальных и вычислительных методов по выявлению критически важных генов с акцентом на применение указанных методов для злокачественных клеток, что является темой третьей главы работы. Четвёртая глава диссертации связана с подразделом 1.2, где обсуждаются различные варианты системно-биологического анализа транскриптома. Наконец в подразделе 1.3 описываются программные конвейеры для функциональной аннотации и клинической интерпретации результатов NGS (тема пятой главы работы), а также принципы прецизионной онкологии и результаты последних клинических испытаний этого подхода (тема шестой главы работы). Необходимо отметить высокое качество обзора, а также большое количество привлеченных данных – список литературы включает ссылки на 446 источников.

Вторая глава, «Исходные данные и методы обработки», содержит описание использованных в работе способов построения транскрипционной функциональной карты и выявления активированных регуляторов генной экспрессии. Далее приводится информация о входных данных для экспериментов *in silico*, описаны алгоритмы и их параметры, использованные в разработанных Пятницким М.А. методах по стратификации пациентов и идентификации критически важных генов. Описан формат результирующего файла для программного конвейера по аннотации генетических вариантов, модели данных разработанной платформы для прецизионной онкологии. Также в этой главе излагаются экспериментальные методики использованные

для полноэкзомного секвенирования и подавления экспрессии генов клеток меланомы.

Третья глава диссертации, «Уязвимые точки протеома клеток меланомы», посвящена разработке оригинального метода по поиску критически важных генов. Необходимо отметить, что работа Пятницкого М.А. является одной из первых публикаций, посвящённых изучению негативного отбора по итогам секвенирования геномов клеток злокачественных новообразований. В результате применения указанного метода для клеток меланомы получен список из 91 гена. Автором описана экспериментальная проверка – при ингибировании экспрессии ряда генов (UNC45A, RHPN2, ZNFX1 и STK11IP) было найдено усиление процессов, связанных с апоптозом, а также отсутствие влияния на уровень жизнеспособности клеток (по-видимому, следствие использованной технологии РНК-интерференции).

Четвёртая глава, «Стратификация пациентов», содержит описание нового алгоритма по кластеризации транскриптомных профилей и иллюстрирует его применение. Автору удалось показать преимущества своего подхода относительно ряда альтернативных методов в терминах точности кластеризации и биологической интерпретируемости. Особый интерес представляет раздел 4.2, посвящённый кластеризации заболеваний. Было показано, что разработанный метод может быть успешно применен для решения другой биологической задачи, а именно — для корректного группирования близкородственных заболеваний со схожими паттернами регуляции генной экспрессии.

Пятая глава, «Геномика и транскриптомика для индивидуальной онкофармакологии» иллюстрирует применение разработанного автором программного конвейера по аннотации генетических вариантов. На примере данных полноэкзомного секвенирования образцов колоректального рака и гепатоцеллюлярной карциномы показано, как использование такого инструмента облегчает клиническую интерпретацию результатов NGS,

позволяя выявлять вероятные генов-драйверов онкологической трансформации и определять потенциально эффективные противоопухолевые препараты.

Шестая глава диссертационной работы, **«Веб-платформа для прецизионной онкологии»**, развивает и обобщает идеи, изложенные в предыдущем разделе. Под руководством Пятницкого М.А. разработана веб-платформа, предназначенная для автоматической клинической интерпретации различных типов молекулярно-генетических анализов опухоли, не ограничиваясь результатами только технологии NGS. В указанной главе подробно описан богатый функционал системы, структура базы данных биомаркеров. Также даны описания интерфейса пользователя и типовые сценарии работы с платформой.

Многоплановые результаты диссертационной работы суммированы в **разделе «Заключение»**, где также обсуждаются вопросы трансляции «омиксных» технологий в клинику и намечаются направления для дальнейших изысканий. Завершают диссертацию разделы с итоговыми выводами, списком литературы, приложением и благодарностями.

Научно-практическая значимость работы

Необходимо отметить, что каждый из основных разделов диссертационной работы М.А. Пятницкого, помимо научного интереса, имеет и потенциальное практическое применение. Так разработанный соискателем подход к идентификации генов, чья активность необходима для выживания клеток опухоли, может быть использован для предсказания тканеспецифичных белков-мишеней для создания новых химиотерапевтических агентов. Разработанный новый алгоритм кластеризации транскриптомных профилей естественным образом может быть использован для стратификации пациентов, что в свою очередь позволит оптимизировать стратегию лечения.

Наиболее важным научно-практическим результатом диссертационной работы является разработанная под руководством Пятницкого М.А. программное обеспечение (т.н. веб-платформа) для автоматической клинической интерпретации результатов различных типов молекулярно-генетических анализов опухоли, включая высокопроизводительное секвенирование генома, иммуногистохимический анализ, флуоресцентная гибридизация *in situ* и т.д. Применение такого рода программных инструментов позволит врачу-онкологу максимально полноценно проанализировать всю совокупность результатов молекулярно-генетических анализов и соответствующим образом скорректировать тактику лечения для достижения максимального эффекта противоопухолевой терапии.

Важно подчеркнуть, что высокая научно-практическая значимость работы подтверждена наличием патента №2577107 «Способ поиска белков-мишеней, запускающих процесс канцерогенеза, в образцах тканей индивидуального пациента, для последующей противоопухолевой фармакотерапии», а также свидетельством о государственной регистрации программы для ЭВМ №2020618223 «Платформа для обработки и интерпретации клинических данных и молекулярно-генетических исследований опухолей человека для подбора персонализированной терапии».

Значимость представленной диссертации для биоинформатики и математической биологии

Современные высокопроизводительные технологии позволяют генерировать огромные объемы данных, и результаты по секвенированию геномов и транскриптомов составляют значительную долю в общем информационном потоке. Поэтому один из ключевых вопросов, стоящих перед современной биоинформатикой, можно сформулировать так: «как нам следует анализировать собранные данные по NGS, чтобы получить новые биомедицинские знания?». В этом смысле, представленная диссертация даёт несколько разноплановых ответов на этот вопрос. Во-первых, показано как

можно использовать геномные данные для поиска тканеспецифичных критически важных генов. Во-вторых, проиллюстрировано как можно обрабатывать транскриптомные профили для глубокого понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе разных подтипов заболеваний. Наконец, продемонстрированы примеры применения методов прикладной биоинформатики для потенциальной трансляции результатов NGS в клиническую практику. Таким образом диссертационная работа Пятницкого М.А. представляет большой интерес для биоинформатиков, интересующихся вопросами анализа, интерпретации, и клинического использования «омиксных» данных.

Рекомендации по применению результатов

Диссертационная работа Пятницкого М.А. носит ярко выраженный научно-практический характер. Каждый полученный результат может быть использован в решении соответствующих задач в области фундаментальной и прикладной онкологии, как при поиске мишеней для новых лекарств (третья глава), поиске новых биомаркеров и определении молекулярных профилей опухолей (четвёртая глава), или непосредственно в помощи интерпретации результатов секвенирования опухолей врачами и клиницистами с помощью разработанной веб-платформы (пятая и шестая глава). Использование разработанной веб-платформы в коммерческих организациях уже является прямой иллюстрацией востребованности и применимости полученных автором результатов. Стоит ожидать, что в ряде крупных медицинских учреждений онкологического профиля, таких как НМИЦ им. Н.Н. Блохина, МНИОИ им П.А. Герцена, МГОБ №62, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова и др., результаты работы Пятницкого М.А. будут внедрены в их научную и практическую деятельность.

Соответствие формальным критериям

Диссертационная работа Пятницкого Михаила Алексеевича выполнена на высоком научно-техническом уровне с использованием современных вычислительных и экспериментальных методов. Материалы, изложенные в диссертации соискателя нашли своё отражение в 24-х публикациях, входящих в список изданий, рекомендуемых ВАК РФ, а также в трёх главах коллективных монографий. По итогам работы получен патент и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Основные результаты работы были доложены на 17-ти отечественных и международных конференциях и симпозиумах. Выводы, делаемые автором, логичны и обоснованы. Содержание автореферата полностью отражает суть диссертационной работы.

Вопросы и замечания по тексту диссертации

1. В литературном обзоре детально описаны методы выявления критически важных генов, а также программные инструменты для нужд прецизионной онкологии. Однако в разделе, посвящённом системной биологии применительно к транскриптомике, хотелось бы видеть больше описаний графовых методов, а также результатов сравнительного анализа производительности алгоритмов.

2. В разделе 2.3 автором описан метод силуэтов, использованный для определения количества кластеров. Однако в работе встречаются также и упоминания L-метода, как альтернативного подхода. Наверное, стоило бы добавить описание и этого подхода в “Материалы и методы”

3. Чем обусловлен выбор специфических методов кластерного анализа, применявшихся для стратификации транскриптомных образцов?

4. В работе не приведены оценки времени, необходимого для анализа “типичного” пациента. Также не указаны минимальные требования к серверу, на котором может быть развёрнута платформа для прецизионной онкологии,

что особенно актуально, учитывая большие объёмы данных типового эксперимента по высокопроизводительному секвенированию.

Впрочем, сделанные замечания не меняют общего положительного впечатления о выполненной работе и не снижают ее научной и практической ценности.

Заключение

Резюмируя вышеизложенное, диссертационная работа Пятницкого Михаила Алексеевича «Высокопроизводительное секвенирование в молекулярной онкологии: поиск мишеней и стратификация пациентов для персонализации противоопухолевой терапии», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – «математическая биология, биоинформатика» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований изложены новые научно обоснованные решения, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие биомедицинской науки.

Таким образом, представленная диссертационная работа полностью отвечает всем требованиям изложенным в п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г., с изменениями от 11 сентября 2021 г. №1539, а её автор, Пятницкий М.А., заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – «математическая биология, биоинформатика».

Отзыв заслушан и утвержден на межлабораторном научном семинаре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук от 28 сентября 2022 г. Присутствовало на заседании 22 человека. Результаты голосования:

«за» - 22 человека, «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 1 от «28» сентября 2022 г.

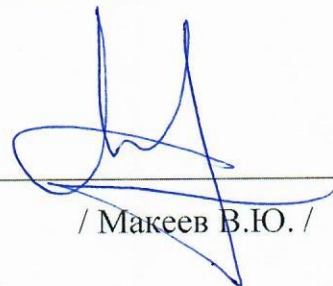
Заведующий лабораторией

системной биологии и вычислительной генетики ИОГен РАН,

доктор физико-математических наук,

член-корреспондент РАН,

Макеев Всеволод Юрьевич



/ Макеев В.Ю. /

«Подпись Макеева Всеволода Юрьевича заверяю»

УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Д. Б. Н

ГОРЯЧЕВА И.И.



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
Адрес: 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3
Телефон: (499) 135-62-13,
Электронная почта: iogen@vigg.ru