

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Федотова Дмитрия Андреевича
«Спектр CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития и
их ассоциация с аномалиями эмбриогенеза», представленную к защите на
соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Актуальность темы исследования

Расстройства нейropsychического развития (РНПР) – обширная группа заболеваний, вызывающих поведенческие и когнитивные нарушения, которые являются актуальной медико-социальной проблемой. До 3% детей страдает задержкой психомоторного развития, что часто связано с генетическими нарушениями и врождёнными аномалиями развития. В части семей с больными детьми у матерей отмечают отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (бесплодие, невынашивание беременности, врождённые пороки развития, мертворождение), что указывает на связь данных нарушений, общность их этиологических и патогенетических факторов. Невынашивание беременности является одной из актуальных современных медицинских проблем. Самопроизвольным прерыванием, наиболее часто происходящим в I триместре, заканчивается до 15% клинически зарегистрированных беременностей. Повторные случаи невынашивания беременности, отмечаемые у 1-2% супружеских пар, оказывают негативное воздействие на здоровье женщины и психоэмоциональное состояние в семье. Этиология самопроизвольных потерь беременности многообразна и включает различные причины и патогенные факторы, влияющие как со стороны самого эмбриона/плода, так и с материнской стороны. В большинстве (50-60%) случаев потери беременности вызваны хромосомными аномалиями (анеуплоидией и несбалансированными структурными аномалиями хромосом, патогенными вариациями числа копий генетических причин нарушения физического и нейropsychического развития, отмечаемые у 7-40% пациентов с РНПР. Имеются данные о негативных эффектах некоторых вариантов числа копий как на эмбриональное развитие нервной системы и других органов. Выявление одинаковых и схожих хромосомных вариантов и CNV в одних и тех же областях генома у пациентов

с РНПР и спонтанных абортусов указывает на то, что они могут являться одной из причин, приводящих к нарушениям раннего пре- и постнатального развития, нарушению фертильности. Однако связь данных нарушений, роль CNV и содержащихся в них генах в их этиологии недостаточно изучена.

Диссертационное исследование Д.А. Федотова посвящено изучению вариантов числа копий (CNV) у пациентов нарушениями психомоторного развития, выявлению патогенных вариантов, которые смогут быть связаны с РНПР, нарушением эмбрионального развития и невынашиванием беременности, поэтому актуальность темы исследования не вызывает сомнения.

Научная новизна

В диссертационном исследовании Д.А. Федотова получены новые научные данные о частоте, спектре и характеристике CNV в семьях с детьми с РНПР в зависимости от исходов предыдущих беременностей (наличия или отсутствия невынашивания беременности у матерей). Впервые оценена встречаемость РНПР, связанными с патогенными, вероятно патогенными CNV или вариантами с неопределенной клинической значимостью, в зависимости от наличия спонтанных абортусов в анамнезе матери, оценена частота и спектр CNV. Выявлены отличия по частоте и спектру CNV у пациентов с РНПР из семей со случаями невынашивания и без зафиксированных самопроизвольных потерь беременности. Обнаружена более высокая частота микроделений у пациентов с РНПР из семей, в которых у матерей отмечены случаи невынашивания беременности, по сравнению с пациентами из семей, не имеющих спонтанных потерь беременности (19% против 11%). У 4% пациентов с РНПР обнаружены патогенные CNV, в том числе, микроделеции 22q11.21, ассоциированные с синдромом Ди Джорджи, велокардиофациальным синдромом, микроделеции 15q11.2 и 16p11.2-p12.2. Впервые описан ряд несиндромальных CNV (в регионах 2q23.1, 3q29, 16p11.2), обогащенных генами, ассоциированными с нарушениями эмбриогенеза, аномалиями сердечно-сосудистой и иммунной систем, которые могут быть патогенетически значимыми как в отношении развития нервной системы и психомоторного развития, так и самопроизвольного прерывания беременности. Установлено, что моногенные CNV значительно чаще встречаются среди детей с РНПР из семей со спонтанными абортусами, по сравнению с семьями без невынашивания беременности (9% против 3%). Выявлен ряд генов (*AGBL4*, *MBD5*, *DTNB*, *SPOCK3*, *CDKAL1*, *AUTS2*, *IMMP2L*, *CDK13*, *CEP128*, *UNC13C*, *MACROD2*, *TSPAN7*), изменения копийности которых

могут быть вовлечены как в этиологию РНПР, так и невынашивания беременности.

Ценность для науки и практики результатов работы

В работе Д.А. Федотова получены новые данные, свидетельствующие о том, что в семьях, имеющих детей с нарушением психомоторного развития с патогенными или вероятно патогенными CNV, в том числе унаследованными, повышена вероятность самопроизвольных потерь беременности. Установлена, что большая часть (68%) микроделечий и микродупликаций у пациентов с РНПР унаследованы от условно здоровых родителей, преимущественно от матерей. Обнаруженные варианты числа копий охарактеризованы по характеру изменения копийности, размеру, происхождению и генному составу. Описанные в работе клинические случаи с унаследованными от родителей вариантами, наличием невынашивания, особенно с соответствующими патогенными CNV у абортусов, наглядно демонстрируют актуальность и практическую значимость исследования CNV в семьях с детьми с РНПР и с нарушением фертильности.

Полученные знания могут быть использованы при интерпретации результатов хромосомного микроматричного анализа (aCGH) в ходе пренатального генетического тестирования, при медико-генетическом консультировании и ведении супружеских пар, имеющих ребенка с РНПР, а также пар с невынашиванием беременности в анамнезе.

В ходе исследования разработаны и внедрены в практику две медицинские технологии по молекулярно-цитогенетической диагностике моногенных CNV и структурных хромосомных вариантов на хромосоме X у пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости. Полученные в данные также могут быть использованы при создании лекционных курсов, включены в программу обучения студентов, аспирантов медицинских и биологических факультетов, курсов повышения квалификации для врачей, а также в программу обучения ординаторов по специальностям «Генетика» и «Лабораторная генетика».

Достоверность результатов диссертации

Высокая степень достоверности данных, полученных в диссертационной работе Д.А. Федотова, обеспечивается репрезентативностью исследованной выборки (1417 пациентов с расстройствами нейropsychического развития), использованием комплекса современных молекулярно-цитогенетических,

молекулярно-генетических методов исследования, в том числе высокоразрешающих геномных методов (хромосомный микроматричный анализ, aCGH), верификацией полученных результатов, привлечением информации из открытых источников для интерпретации полученных данных, а также применением адекватных методов статистического анализа.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование Д.А. Федотова основывается на адекватном методологическом подходе к планированию и проведению исследования. В своей работе автор поставил четкую конкретную цель и сформулировал соответствующие ей задачи. Теоретические и методические аспекты исследования основаны на глубоком анализе научных работ в области этиологии и генетики расстройств нейropsychического развития, нарушений эмбрионального развития и невынашивания беременности, вариаций числа копий (CNV) как причины их развития. Полученные автором результаты свидетельствуют о выполнении всех поставленных задач, умозаключения в полной мере подкреплены убедительными экспериментальными данными. Положения и выводы, изложенные в диссертации, представляют собой научно обоснованные и аргументированные утверждения, которые базируются на оригинальных результатах и подтверждаются данными статистического анализа. Результаты исследования иллюстрированы большим количеством рисунков и таблиц.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

Материалы диссертации представлены в 23 печатных работах соискателя, в том числе 11 статьях в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук перечня ВАК РФ (из них 4 статьи, индексируемые в базах данных Web of Science/Scopus), и 10 тезисах российских и зарубежных конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 177 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, выводы, заключение, список сокращений, список литературы и

иллюстративного материала, приложение. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 26 рисунками. Библиография содержит 280 источников литературы, из них 19 отечественных и 261 зарубежный.

Обзор литературы изложен на 39 страницах и отражает современные научные знания о расстройствах нейropsychического развития, нарушениях эмбрионального развития и вынашивания беременности, их частоте, этиологии и методах генетической диагностики, частоте и характеристике CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития CNV и спонтанных абортусов. В обзоре освещается возможность ассоциации расстройств нейropsychического развития с нарушением фертильности в одной семье, молекулярные механизмы патогенных эффектов от CNV, связанных с ними, факторы, модифицирующие клиническую манифестацию генетических вариантов, вопросы их клинической интерпретации.

В главе 2 (раздел Материалы и методы), изложенном на 17 страницах, приведена характеристика исследованных выборок, подробно описан дизайн исследования, использованные в работе лабораторные методы, протоколы постановки экспериментов, реактивы и оборудование, интерпретация данных.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» изложена на 57 страницах и представляет собой основную часть диссертационной работы, ее подразделы соответствуют поставленным задачам. В данном разделе представлены и обсуждаются собственные результаты анализа частоты расстройств нейropsychического развития, связанных с наличием CNV, в семьях, в которых в анамнезе имеются или отсутствуют спонтанные аборты, оценке частоты, спектра и характеристике обнаруженных CNV в общей выборке и группах по клинической значимости, происхождению, копийности и размеру, геномному составу. Также описаны клинические случаи с патогенными и вероятно патогенными CNV у пробандов с РНПР, матери которых имеют случаи спонтанных абортов в анамнезе.

Текст автореферата достаточно полно отражает основные полученные результаты и положения диссертационной работы, соответствует ее содержанию, раскрывает научную новизну и значимость работы.

По диссертационной работе принципиальных замечаний нет.

Некоторые несущественные замечания:

В тексте диссертации и автореферата не указано сколько пациентов с

РНПР не являлось родственниками, а сколько сибсами, а также зиготность у близнецов, если таковые были, и она была установлена.

Поскольку в общей выборке встречалось довольно большое количество пациентов с наследственными синдромами, обусловленными патогенными которые влияют на общую структуру обнаруженных генетических вариантов, можно было бы сравнить их частоту и спектр между семьями с наличием и отсутствием спонтанных беременностей в анамнезе. Также актуальным было бы сравнить геномную локализацию обнаруженных CNV по классам патогенности между группами пациентов с наличием и отсутствием невынашивания в анамнезе их матерей.

В результатах анализа происхождения CNV (унаследованные или *de novo*) представлены и типы по изменению копийности, но не приведены данные о их патогенности, хотя в работе указано, что некоторые патогенные варианты были унаследованы от условно здоровых родителей. Фенотип родителей с данными не описан.

Некоторые значения данных, полученных в работе, округлены до целых чисел, например, частота пациентов, имеющих разные по патогенности и типу изменения копийности CNV в общей выборке (указано, что 35 вероятно патогенных и 40 различных комбинированных CNV имеют одинаковую частоту – 3%). Следовало бы привести и точнее, указав до десятых долей.

В тексте диссертации встречаются некорректные термины и выражения, например, «моногенные и полигенные аберрации». Фраза «CNV, ассоциированные как с расстройствами нейropsychического развития, так и с аномалиями эмбриогенеза» не вполне точно сформулирована, поскольку в работе собственно не оценивались аномалии эмбриогенеза.

Не вполне корректно утверждение «Очевидно, для того чтобы CNV привела и к нарушению эмбриогенеза, и рождению ребенка с РНПР в одной и той же семье, вариант должен быть унаследован от одного из родителей». Расстройства нейropsychического развития, в том числе, вследствие генетических изменений, могут быть следствием нарушений в эмбриональный, фетальный или постнатальный период развития. Точнее следует говорить о самопроизвольной потере беременности при наличии у эмбриона патогенной CNV, которая может быть связана как с нарушением эмбрионального развития и/или вынашивания беременности, так и с РНПР. Кроме того, следует учитывать, что подобные случаи их сочетания в одной

семье могут быть вызваны наличием гонадного мозаицизма у отца или матери по соответствующим патогенным генетическим вариантам.

В Заключении несколько избыточно перечисление основных результатов с приведением значений % и уровней статистической значимости (p).

При ознакомлении с текстом диссертации возникли следующие вопросы:

Некоторые моногенные CNV, обнаруженные в работе, характеризовались частичной дупликацией гена. Однако несмотря на повышение копийности следует учитывать, что данные CNV могут снижать функцию гена и по своему эффекту быть отнесены к «loss of function» вариантам. Учитывался ли этот факт при оценке изменения копийности данных CNV?

При сравнении частот CNV с разной патогенностью между группами пациентов, в семьях, в которых отмечено наличие и отсутствие спонтанных аборт, не обнаружено статистически значимых отличий по частоте разных патогенных и вероятно патогенных вариантов при этом отмечено значимое различие по частоте моногенных CNV. Чем это может быть обусловлено?

Однако следует подчеркнуть, что указанные недочеты не являются принципиальными, касаются оформления работы и не снижают ее общей высокой ценности, а вопросы носят дискуссионный или рекомендательный характер и лишь подчеркивают интерес к данному диссертационному исследованию.

Заключение

Диссертационное исследование Федотова Дмитрия Андреевича на тему «Спектр CNV у пациентов с расстройствами нейропсихического развития и их ассоциация с аномалиями эмбриогенеза» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, касающейся роли генетических факторов, связанных как с нарушением нейропсихического развития, так и репродуктивными потерями в одной и той же семье, что имеет существенное значение как для развития генетики, так и медицины.

Диссертационная работа Федотова Дмитрия Андреевича по своей актуальности, научной новизне и практической значимости, полноте изложения и достоверности полученных результатов, степени обоснованности сформулированных в диссертации научных положений и выводов, соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от

16.10.2024 г.)), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Федотов Дмитрий Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Официальный оппонент

Заведующий лабораторией генетики нарушений репродукции
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
доктор медицинских наук
по специальности
1.5.7 – Генетика (медицинские науки)



Черных Вячеслав Борисович

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова» (ФГБНУ «МГНЦ»)
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1
8-499-324-13-20 (раб.)
chernykh@med-gen.ru
<https://med-gen.ru/>

Подлинность подписи В.Б. Черных заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ «МГНЦ»

к.м.н.

Ворогина Екатерина Сергеевна

29.09.2025

