

Отзыв

официального оппонента, кандидата биологических наук,
Сташкевич Дарьи Сергеевны, декана биологического факультета Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Челябинский государственный университет», на диссертационную работу Ивановой
Екатерины Сергеевны на тему:
«Генетические маркеры, ассоциированные с тяжестью течения коронавирусной инфекции
COVID-19», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности

1.5.7. Генетика (биологические науки)

Актуальность темы исследования.

Диссертационная работа Ивановой Екатерины Сергеевны посвящена одной из актуальных проблем современной биомедицинской науки - выявлению генетических предикторов тяжелого течения инфекционных заболеваний. Пандемия COVID-19 продемонстрировала, что клинические исходы при воздействии одного и того же патогена могут варьировать в широчайших пределах, и это разнообразие не может быть объяснено исключительно возрастом, полом или наличием сопутствующих заболеваний. В условиях продолжающейся циркуляции SARS-CoV-2 и появления новых вариантов вируса, а также в связи с растущим объемом данных о постковидных осложнениях, поиск надежных молекулярно-генетических маркеров, позволяющих прогнозировать течение инфекции на ранних этапах, сохраняет высокую востребованность.

Степень разработанности темы.

На данный момент многие аспекты генетической предрасположенности к тяжелому течению коронавирусной инфекции COVID-19 остаются нераскрытыми. В частности, за рамками системного анализа остаются гены, контролирующие метаболизм ксенобиотиков (семейство CYP450) и посттранскрипционную регуляцию иммунного ответа (микроРНК). Имеющиеся по ним данные носят разрозненный и противоречивый характер. До настоящего времени не проводилось комплексных исследований, оценивающих совместный вклад иммуногенетических и фармакогенетических маркеров, а также их межгенных взаимодействий, в развитие тяжелых форм COVID-19.

Цель исследования. Изучить ассоциацию полиморфных локусов генов, участвующих в иммунном ответе (*IL-6*, *TYK2*), генов микроРНК (*miR-146a*, *miR-155*) и генов системы цитохромов P450 (*CYP2D6*, *CYP3A5*, *CYP1A2*, *CYP3A4*), а также их межгенных взаимодействий с риском тяжёлого течения коронавирусной инфекции COVID-19.

Задачи исследования. В рамках исследования решались следующие задачи: проведен сравнительный анализ клинико-демографических и биохимических параметров пациентов с разной тяжестью COVID-19; оценен вклад полиморфных вариантов генов системы цитохромов P450 в тяжесть течения инфекции; изучены ассоциации полиморфизмов генов *IL-6* и *TYK2* с риском тяжелого течения заболевания; проанализировано распределение генотипов и аллелей полиморфных локусов генов микроРНК и их связь с тяжестью инфекции; а также выявлены модели межгенных взаимодействий между исследованными локусами, ассоциированные с риском развития тяжелой формы COVID-19.

Научная новизна. Научная новизна работы определяется комплексным подходом к оценке генетических факторов тяжелого течения COVID-19. Впервые на выборке

пациентов из Ростовской области проведен комплексный анализ полиморфных локусов генов, представляющих три функционально различных системы: цитохромы P450, иммунный ответ и микроРНК-опосредованную регуляцию экспрессии генов. Такой системный подход позволил не только оценить вклад каждой из систем в отдельности, но и выявить их интегративное влияние на тяжесть течения COVID-19. Автором впервые установлены ассоциации полиморфных локусов *IL-6* rs1800795 и *CYP3A4* rs2740574 с риском развития тяжелой формы инфекции в данной популяции. Также впервые выявлены 2 статистически значимые модели межгенных взаимодействий исследуемых локусов.

Научно-практическая значимость работы. Полученные в работе результаты вносят вклад в понимание генетических механизмов, определяющих межиндивидуальную вариабельность течения COVID-19. Автором показано, что тяжелые формы инфекции ассоциированы не только с отдельными генетическими вариантами, но и с их сочетанным действием в составе межгенных комбинаций. Это подтверждает полигенную природу заболевания и расширяет существующие представления о взаимодействии генов воспалительного ответа, биотрансформации ксенобиотиков и микроРНК-опосредованной регуляции в патогенезе инфекции. С практической точки зрения установленные ассоциации полиморфизмов генов системы цитохромов P450 с тяжестью COVID-19 обосновывают целесообразность фармакогенетического консультирования пациентов при назначении лекарственной терапии. Выявленные модели межгенных взаимодействий могут быть использованы для разработки панелей генетического скрининга с целью стратификации пациентов по риску неблагоприятного исхода. Созданная и зарегистрированная база данных, аккумулирующая информацию о биохимических, иммунологических и генетических параметрах пациентов, может служить ресурсом для построения прогностических алгоритмов на основе интеграции клинико-лабораторных и молекулярно-генетических данных. Работа выполнена в рамках национального проекта «Новые технологии сохранения здоровья» и вносит вклад в развитие персонализированной медицины, создавая научную основу для патогенетически обоснованной терапии инфекционных заболеваний.

Методология и методы исследований.

Объектом исследования послужили образцы крови 217 пациентов, перенесших COVID-19, которые в зависимости от тяжести клинических проявлений были разделены на две группы: легкое течение (n=113) и тяжелое течение (n=104). Молекулярно-генетический блок работы включал генотипирование одиннадцати полиморфных локусов, отобранных на основе данных литературы и результатов GWAS-исследований. Генотипирование проведено с использованием двух методов: аллель-специфической ПЦР в реальном времени (для большинства исследованных локусов) и ПЦР с последующим рестрикционным анализом (для полиморфного локуса *TYK2* rs11085727). Статистическая обработка данных проведена с применением пакета прикладных программ SPSS Statistics 27.0; для выявления межгенных взаимодействий использован алгоритм MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) версии 3.0.2.

Степень достоверности и апробации работы. Примененный в работе комплекс молекулярно-генетических и статистических методов полностью соответствует поставленным цели и задачам, что свидетельствует о высоком методическом уровне проведенного исследования. Это позволяет заключить, что представленные в диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации являются обоснованными и

достоверными. Результаты работы прошли апробацию на научных форумах различного уровня.

Личный вклад автора. Соискателем лично выполнен весь объем исследований, представленных в диссертации. Автором проведен глубокий анализ научной литературы по теме работы, сформулированы цель и задачи, обоснована методология исследования. Самостоятельно осуществлены набор клинического материала, формирование групп пациентов на основе четких фенотипических критериев и проведение молекулярно-генетического анализа, включающего все этапы - от выделения геномной ДНК до генотипирования одиннадцати полиморфных локусов. Автором лично выполнена статистическая обработка данных с использованием современных алгоритмов, включая MDR-анализ межгенных взаимодействий. Интерпретация полученных результатов, их сопоставление с данными отечественных и зарубежных исследований, а также формулировка выводов выполнены диссертантом самостоятельно. Подготовка рукописи диссертации и автореферата также осуществлена лично соискателем.

Публикации. Основные результаты исследования опубликованы в 8 научных работах, включая 5 статей в изданиях из перечня ВАК РФ и 2 тезиса докладов. Получено свидетельство о регистрации базы данных «Полиморфные варианты генов цитохрома P450 у пациентов с разной степенью тяжести COVID-19».

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 171 странице машинописного текста и имеет классическую для диссертационных исследований структуру. Работа включает введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, главу, содержащую собственные результаты и их обсуждение, заключение, выводы и библиографический список.

Обзор литературы структурирован по нескольким тематическим блокам. Вначале автор анализирует эпидемиологические данные и клинический полиморфизм COVID-19, подчеркивая, что спектр проявлений инфекции не может быть объяснен исключительно внешними факторами. Далее рассматриваются классические факторы риска - возраст, коморбидность, метаболические нарушения. Основной объем главы посвящен генетическим детерминантам: автор последовательно разбирает молекулярные основы взаимодействия вируса с клеткой (ACE2, TMPRSS2), данные CRISPR-скринингов (гены *TMEM41B*, *RAB7A*, *NPC1*), результаты GWAS-исследований. Отдельно выделены разделы о генах иммунного ответа (*IL-6*, *TYK2*, JAK/STAT-путь), микроРНК (*miR-146a*, *miR-155*) и системе цитохромов P450. Завершается глава обоснованием необходимости изучения межгенных взаимодействий - именно этот переход определяет концептуальную новизну всей работы.

В первом подразделе главы «Материалы и методы исследования» охарактеризованы дизайн исследования и клиническая характеристика групп пациентов (с легким и тяжелым течением COVID-19), подробно описаны критерии включения, разделения на группы и этап рекрутинга, осуществлявшийся в строго контролируемый период до начала массовой вакцинации. Второй подраздел посвящен методам лабораторной диагностики: описаны процедуры забора и подготовки биологического материала, выделения ДНК, определения биохимических показателей и иммуноглобулинов. Особое внимание уделено молекулярно-генетическому блоку: подробно представлены методы генотипирования одиннадцати полиморфных локусов с использованием аллель-специфической ПЦР в реальном времени и рестрикционного анализа, что позволяет верифицировать полученные генотипы и минимизировать вероятность методических ошибок. Третий подраздел содержит описание

статистической обработки данных: указаны использованные критерии (t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера), описаны процедуры проверки равновесия Харди–Вайнберга, расчета отношений шансов, а также методы контроля множественных сравнений (поправка Бонферрони) и оценки статистической мощности. Отдельно выделен алгоритм MDR, примененный для выявления межгенных взаимодействий, что является ключевым методологическим решением, позволившим перейти от оценки отдельных локусов к построению интегративных моделей риска. Важно отметить, что комплексных исследований, в которых на одной выборке одновременно оценивался бы вклад генов иммунного ответа, микроРНК и системы цитохромов P450 в тяжесть течения COVID-19, особенно в российских популяциях, до настоящего времени практически не проводилось. Это подчеркивает вклад работы в развитие системного подхода к изучению генетических факторов инфекционных заболеваний.

Следующий раздел диссертации содержит результаты собственных исследований автора. В нем последовательно представлены данные о клинико-демографических и биохимических характеристиках пациентов, ассоциациях полиморфных локусов с тяжестью COVID-19 и результаты анализа межгенных взаимодействий. В подразделе 3.1 представлен клинико-демографический анализ. Показано, что пациенты с тяжелым течением COVID-19 достоверно старше, имеют более высокий ИМТ и чаще страдают гипертонической болезнью, сахарным диабетом 2 типа и патологией печени. В подразделе 3.2 выявлены статистически значимые различия биохимических показателей между группами: у пациентов, перенесших тяжелую форму заболевания, отмечены достоверно более высокие уровни глюкозы, гликированного гемоглобина, ферритина, креатинина, общего холестерина, мочевой кислоты, а также иммуноглобулинов А и G.

В подразделах 3.3.1–3.3.5 проанализировано распределение частот генотипов и аллелей одиннадцати полиморфных локусов. В подразделах 3.4 и 3.5 представлены результаты анализа межгенных взаимодействий с использованием алгоритма MDR. Выявлены две статистически значимые модели риска. Для каждой модели приведены комбинации генотипов высокого риска и рассчитаны отношения шансов. В подразделе 3.6 на основе многофакторного анализа интегрированы клинические, лабораторные и генетические данные, подтверждающие мультифакториальную природу тяжелого течения COVID-19. Завершается глава обсуждением результатов в контексте данных современной литературы.

Работа иллюстрирована 19 таблицами и 42 рисунками, что обеспечивает наглядность представленного материала. Выводы логично вытекают из результатов исследования и соответствуют поставленным задачам.

Структура диссертации логична, отражает основные этапы исследования.

Замечания и вопросы по оппонируемой диссертации.

В главе 3 при описании результатов сравнительного анализа лабораторных показателей автор относит уровни иммуноглобулинов А и G к биохимическим маркерам. С методической точки зрения их корректнее обозначать как иммунологические показатели, поскольку они отражают состояние гуморального звена иммунитета, а не метаболические процессы.

Во время знакомства с диссертационным исследованием у оппонента возникли следующие вопросы:

1. В работе установлена ассоциация полиморфизма *IL-6* rs1800795 с тяжестью COVID-19: генотип GG ассоциирован с повышенным риском, а генотип CC — с протективным эффектом. Известно, что аллель G связан с более высокой транскрипционной активностью гена *IL-6*. Как, по Вашему мнению, различается течение воспалительного процесса у носителей разных аллелей?

2. В работе методом MDR выявлены две модели межгенных взаимодействий, ассоциированные с риском тяжёлого течения COVID-19. Какие генетические взаимодействия, на Ваш взгляд, лежат в основе формирования этих моделей?

Заключение.

Резюмируя вышесказанное, следует подчеркнуть, что диссертационная работа расширяет существующие представления о генетической архитектуре тяжелых форм COVID-19 и имеет практическую значимость для персонализированного подхода к ведению пациентов. Сформулированные автором выводы и защищаемые положения обоснованы, подтверждены экспериментальными данными и статистически достоверны.

Таким образом, диссертация Ивановой Екатерины Сергеевны на тему: «Генетические маркеры, ассоциированные с тяжестью течения коронавирусной инфекции COVID-19» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней в ЮФУ» (№32-ОД от 27.02.2026 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. А ее автор, Иванова Екатерина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук, декан
биологического факультета Федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Челябинский
государственный университет»,

Адрес: 454001, г. Челябинск, ул. Братьев
Кашириных, 129
тел. +7 (351) 799-71-54
e-mail: stashkevich_dary@mail.ru



Сташкевич Дарья Сергеевна

Подпись Д.С. Сташкевич заверяю

ВЕДУЩИЙ СПЕЦИАЛИСТ
ОТДЕЛА КАДРОВ
АКУТИНА В.И.

