

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Иванова Романа Артемовича на тему: «Филостратиграфический и филотранскриптомный анализ генов, связанных с развитием онкологических заболеваний», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 – математическая биология, биоинформатика.

Актуальность избранной темы.

Исследование механизмов онкогенеза остается чрезвычайно актуальным по причине высокой смертности, обусловленной злокачественными заболеваниями. В настоящее время растет важность изучения роли экспрессии, анализа происхождения и эволюции генов, ассоциированных с онкопатологиями для выявления причин приобретения злокачественными клетками их отличительных черт. Филостратиграфический анализ, сопоставляющий ген с его самым ранним идентифицируемым предком на таксономическом древе, показал, что гены, связанные с фундаментальными клеточными процессами, зачастую восходят к ранним эволюционным эпохам, отражая консервативность ключевых биологических функций. На основе филостратиграфического анализа разработаны метрики: индекс возраста транскриптома TAI, который отражает средний эволюционный возраст экспрессируемых в определённых условиях генов, и индекс дивергенции транскриптома TDI, описывающий насколько увеличивается активность более консервативных генов или, наоборот, дивергентных. Индексы TAI и TDI позволяют выявлять характерные паттерны экспрессии на разных стадиях онкогенеза. Однако, несмотря на значительный прогресс, сохраняются существенные пробелы в исследованиях данной области, остается недостаточно изученной динамика филотранскриптомных показателей (TAI/TDI) на различных стадиях клинического развития опухолей.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. К наиболее важным научным результатам исследования, характеризующим его новизну, могут быть отнесены:

- Проведен комплексный анализ эволюционных характеристик генов, дифференциально экспрессирующихся на различных клинических стадиях опухолей, с использованием методов филостратиграфии и филотранскриптомного анализа.
- Разработана методика филотранскриптомного анализа с использованием индексов возраста (TAI) и дивергенции (TDI) транскриптома, предназначенная для количественной оценки эволюционной динамики экспрессии генов, проявляющихся дифференциальную экспрессию на различных стадиях патологического развития ряда карцином человека.
- Разработан веб-сервис Orthoweb 2, обеспечивающий расчёт эволюционных индексов на основе ортологов и гомологии последовательностей, а также интеграцию и визуализацию генных сетей из внешних источников, позволяющий проводить филостратиграфический анализ как отдельных генов, так и генных сетей. Важным усовершенствованием является реализованная способность к интеграции в эволюционный анализ генных сетей дополнительных данных, включая функциональную аннотацию генов (GO), сведения об однонуклеотидных полиморфизмах (SNP) и данные об экспрессии генов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Теоретическая значимость исследования состоит в том, что:

- Обнаружены закономерности распределений индексов возрастов транскриптов, которые расширяют представления о динамике эволюционного давления в ходе развития опухолей и в будущем смогут служить основой для разработки стадий-специфичных биомаркеров.
- Филостратиграфический анализ сигнальных путей, связанных с злокачественными заболеваниями, позволяет различать консервативные мишени, жизненно

важные для клеточной выживаемости, и более молодые регуляторы, потенциально уязвимые для таргетной терапии, тем самым открывая новые направления персонализированного лечения.

Практическая значимость исследования заключается в том, что разработанный программный комплекс Orthoweb 2 для расчета эволюционных характеристик генов обеспечивает общедоступную платформу для интегрального эволюционного анализа генов и генных сетей, что существенно упрощает внедрение филостратиграфических и филотранскриптомных индексов в рутинные исследования молекулярной онкологии.

Преимущества разработанных методов в возможности объединять данные о возрасте генов с профилями экспрессии, SNP и функциональной аннотацией позволяют повысить точность интерпретации результатов и способствуют формированию эволюционно обоснованных стратегий диагностики и терапии онкологических заболеваний.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Работа Иванова Р.А. построена по общепринятой схеме и состоит из введения, обзора литературы, двух глав, описывающих материалы и методы, результаты собственных исследований и их обсуждение, а также заключения, выводов, списка литературы и приложения. Список литературы включает в себя 277 источников, из них только 1 на русском языке, остальные — на английском языке, что говорит о хорошем владении автором зарубежной литературой. Из общего числа 27 источников или примерно 9,7% относятся к последним 5 годам (2021-2025 гг.). Работа изложена на 144 страницах и содержит 6 таблиц, 25 рисунков и 3 приложения.

Структура и логика изложения соответствуют поставленным в диссертации задачам исследования, нацеленным на филостратиграфический и филотранскриптомный анализ генов, вовлечённых в патогенез онкологических заболеваний человека:

1. Разработка программных средств для филостратиграфического и филотранскриптомного анализа генных сетей, а также для автоматизированной обработки и анализа данных экспрессии генов из опухолевых образцов, полученных на различных клинических стадиях;
2. Выявление белок-кодирующих генов, дифференциально экспрессирующихся на разных стадиях развития злокачественных опухолей;
3. Исследование макро- (PAI) и микроэволюционных (DI) характеристик генов, дифференциально экспрессирующихся в тканях опухолей разных органов человека, с использованием филостратиграфического анализа;
4. Исследование филотранскриптомных характеристик (TAI и TDI) транскриптов на разных стадиях развития опухолей человека;
5. Анализ эволюционных характеристик генов, входящих в генные сети онкологических заболеваний человека из баз данных KEGG PATHWAY и WikiPathways.

Для решения поставленных задач автор опирается на обширную теоретическую и методологическую базу. Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи исследования, охарактеризованы научная новизна, теоретическая и практическая ценность исследования, сформулированы два положения, выносимые на защиту, содержащие наиболее существенные результаты работы, обладающие научной новизной.

Обзор литературы (стр. 13) очень подробен и обстоятелен, охватывает как описание проблемы изучения многофакторных заболеваний и подходов эволюционной медицины (стр. 14-15), макроэволюционных процессов и типов естественного отбора (стр. 16-18), мутаций генов в контексте онкологических заболеваний (стр. 19), количественных методов определения типа естественного отбора на основе расчета отношения частот несинонимичных к частотам синонимичных замен (стр. 20-24), филогенетических методов, реализованных в программных инструментах codeml (PAML) и HyPhy (стр. 24-26), филостратиграфического ана-

лиза (стр. 26-30), проблем выявления ортологов (стр. 31-34), филотранскриптомного анализа (стр. 35-30), так и описание компьютерных средств для проведения таких исследований, таких как fagin (стр. 39-41), GenEra (стр. 41-43), oggmap (стр. 43-44), Orthoscape (стр. 44-45), а также биоинформационических ресурсов по онкологическим заболеваниям — TCGA (стр. 46-50) и COSMIC (стр. 50-51). Уделено внимание молекулярным механизмам онкогенеза — способность к автономной пролиферации, резистентность к антипоплифративным сигналам, уклонение от запрограммированной клеточной гибели (стр. 52-54), также описаны неограниченный репликативный потенциал, индукция ангиогенеза (стр. 55-56), сигнальные пути и нарушения их работы в онкологических заболеваниях (стр. 57-59). Приводится собственное заключение (стр. 59-60).

В Главе 2 Материалы и методы (стр. 61) описаны использованные в работе данные по экспрессии генов и методы, применяемые в разработанном вычислительном конвейере. Приведено описание данных из базы TCGA (стр. 62). Приведены краткие характеристики метода идентификации дифференциально экспрессирующихся генов DESeq2 (стр. 63-64) и веб-приложения для определения эволюционных характеристик генов Orthoweb 2, разработанного в данной работе (стр. 65-66). Также охарактеризованы приложение тутAI для филотранскриптомного анализа (стр. 66), веб-инструмент для анализа функционального обогащения транскриптома FoldGO (стр. 67).

В Главе 3 (стр. 68) подробно рассмотрена разработка веб-сервиса Orthoweb 2 для филостратиграфического и филотранскриптомного анализа возраста генов (стр. 68-73). Приведены иллюстрации интерфейса и примеры полученных результатов. Далее описывается разработанный и реализованный программный конвейер cancEv для комплексного анализа данных экспрессии генов (стр. 73-76). В конвейере реализовано четыре этапа: выгрузка и фильтрация данных об экспрессии генов, анализ дифференциальной экспрессии, расчёт эволюционных индексов, анализ филотранскриптомных индексов и редукционные тесты паттерна песочных часов.

Раздел 3.3 (стр. 76-79) содержит результаты анализа дифференциальной экспрессии генов в злокачественных опухолях разных клинических стадий. Результаты филостратиграфического анализа списков дифференциально экспрессирующихся генов представлены в разделе 3.4 (стр. 80-81). Выявлено два выраженных пика их представленности. Первый пик приходится на ранние этапы эволюции, соответствующие переходу от одноклеточных к многоклеточным организмам ($PAI = 3$). Второй пик наблюдается среди генов более позднего происхождения, включая филостраты позвоночных ($PAI = 6$), костных позвоночных ($PAI = 7$) и плацентарных млекопитающих ($PAI = 9$). Сравнительный анализ распределения значений PAI показал статистически значимое увеличение доли эволюционно «молодых» генов ($PAI = 4-9$) среди ДЭГ по сравнению с общим набором кодирующих генов человека ($p < 1 \times 10^{-5}$), что подчёркивает их важную роль в адаптации опухолевых клеток. Результаты расчета индексов возраста транскриптома (TAI/TDI) изложены в разделе 3.5 (стр. 82-90).

Раздел 3.6 (стр. 90-97) посвящен филотранскриптомному анализу клинических стадий карцином человека. Проведена комплексная оценка изменения индексов возраста (TAI) и дивергенции транскриптома (TDI) на различных клинических стадиях заболевания. В разделе 3.7 (стр. 97-112) приводятся результаты филостратиграфического анализа эволюционных индексов генов, входящих в состав различных генных сетей злокачественных заболеваний. Были изучены эволюционные характеристики генов, формирующих ключевые сигнальные пути, вовлечённые в развитие и прогрессирование злокачественных новообразований. Показано, что распределения значений PAI у генов, кодирующих их компоненты, неоднородны и отражают эволюционную стратификацию функций. Стратификация отражает эволюционную пластичность опухолевых сетей.

В заключении диссертационной работы (стр. 113) кратко обобщены основные результаты исследования. По результатам работы сформулированы обоснованные выводы (стр. 116).

Таким образом, на основе достаточного анализа предметной области, адекватной постановки научной проблемы и задач исследования, корректного применения современных подходов и методов получены вполне достоверные и обоснованные результаты.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации.

Имеются недоработки в формулах. Например, стр 21 р_n и р_s расшифровываются позже использования, *DS* и *DN* не описаны.

Встречаются не совсем удачные фразы, например, на стр 29 «во время крупных эволюционных радиаций».

На рис 3 стр 33 приведено р-значение, в виде *, но не указаны границы *, и какой использовался критерий.

Стоит отметить некоторые недостатки оформления. Например, на стр. 63 в начале пункта 2.2 Методы есть ссылка на рис.7, однако он расположен на стр 74, лучше для читателя было расположить его на стр 63. На стр 67 описывается построение тепловой карты для результатов FoldGO, однако хорошо было бы здесь же видеть пример.

Остались не разъясненными некоторые вопросы по разработанным программам. Представленный на рис.5. интерфейс Orthoweb 2 не дает возможности переключиться на отличный от английского язык, что довольно странно при использовании современных технологий, также шрифт может быть увеличен за счет уменьшения пустот, что может сделать использование более комфортным. Также известная ссылка <https://orthoweb.sysbio.cytogen.ru/> не работает. Для программы cancEv:

- не указана лицензия, доступность,
- не указаны технические требования,
- не указаны временные затраты, которые получились у авторов для каждого этапа, относительные временные затраты в % для каждого этапа,
- можно ли какие-то этапы распараллелить, есть ли это в реализации,

- можно ли получить таблицы данных для построения графиков, которые отдаются в png.

В Заключении автору стоило написать, как полученные результаты или разработанные методики могут встроиться в поиск путей лечения рака. На стр 14 указано, что подход способствует пониманию и может сыграть роль в разработке новых стратегий диагностики, профилактики и лечения, поэтому в конце эту тему стоило раскрыть.

Также замечены опечатки:

стр 28 происхождение **частьи** генов

стр 34 он чувствитель**ен**ым к ошибкам

В отличие от других пунктов «Ключевые признаки злокачественных заболеваний 1.6.1» не выделено жирным на стр 53, не выделено жирным на стр 56 «1.6.2 Сигнальные пути и нарушения их работы в онкологических заболеваниях».

Отмеченные недостатки, впрочем, не являются критическими, не умаляют ценности работы и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы Иванова Р.А.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней. Диссертационное исследование Иванова Р.А. выполнено на актуальную тему, представляет собой законченную научную работу, имеет теоретическую и практическую ценность.

Основные результаты диссертации изложены в 7 научных работах, из них три — в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК по специальности 1.5.8 и четыре работы в сборниках тезисов конференций, апробированы научной общественностью и получили положительную оценку. Получено одно авторское свидетельство.

Автореферат и публикации соискателя отражают основное содержание диссертации.

Таким образом, диссертация Иванова Романа Артемовича является научно-квалификационной работой, характеризуется новизной, содержит решение актуальной задачи, имеющей теоретическое и практическое значение, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 – математическая биология, биоинформатика, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Доцент ВШПМиВФ ФизМех,
федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»,
кандидат биологических наук

К.Н. Козлов

Козлов Константин Николаевич
195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29, НИК «Технополис Политех», пом. А.3.28,
Телефон: +7-812-290-9642, +7-904-518-8581
Адрес электронной почты: kozlov_kn@spbstu.ru
Место и адрес работы: ВШПМиВФ ФизМех ФГАОУ ВО «СПбПУ»
Должность: доцент, к.б.н

