

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Института иммунологии и физиологии

УрО РАН, д.ф.-м.н., профессор

О.Э. Соловьёва

«14» апреля 2023 года



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института иммунологии и физиологии Уральского отделения
Российской академии наук

Диссертация «НОВЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ В ОЦЕНКЕ ВРОЖДЕННЫХ ОШИБОК ИММУНИТЕТА: ДЕФИЦИТ RVSK1, ВРОЖДЕННАЯ НЕЙТРОПЕНИЯ, СИНДРОМ ХЕННЕКАМА» выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (далее – *Института иммунологии и физиологии УрО РАН*), кафедры иммунохимии Химико-технологического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» Минобрнауки Российской Федерации» (далее – *ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России*).

В период подготовки диссертации соискатель гражданин Исламской Республики Афганистан Шинвари Хайбер являлся аспирантом ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России.

В 2016 году окончил Департамент микробиологии Университета Фейсалабада Исламской Республики Пакистан, г. Пенджаб.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов по специальности «аллергология, иммунология» выдано в 2022 г. Институтом иммунологии и физиологии УрО РАН.

ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России выдана справка (*справка об обучении № 35 от 24.04.2023*):

- об обучении в очной аспирантуре по направлению 06.06.01 Биологические науки «Физиология» с 27.09.2019 г. по настоящее время (*приказ о зачислении № 623/05 от 27.09.2019*),

- о сдаче кандидатских экзаменов по иностранному языку (английскому), истории и философии науки (биологические науки) и специальным дисциплинам «физиология» и «физиология человека и животных».

Научные руководители:

- *Тузанкина Ирина Александровна*, доктор медицинских наук, профессор, ЗДН РФ, работает в должности главного научного сотрудника лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН;

- *Черешнев Валерий Александрович*, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, работает в должности научного руководителя Института иммунологии и физиологии, г.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Проблемная комиссия Института иммунологии и физиологии УрО РАН на совместном заседании с представителями Химико-технологического института Уральского Федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина (протокол № 3 от 20.04.2020 г.) сочла необходимым утвердить двух научных руководителей по диссертационной работе Шинвари Хайбера, гражданина Исламской Республики Афганистан, поскольку в работе, посвященной исследованиям гено-фенотипических взаимодействий при врожденных ошибках иммунитета, выполненной по специальности 3.2.7. Иммунология (руководство осуществляет д.м.н., профессор, ЗДН РФ И.А. Тузанкина) большое количество материала посвящено исследованиям вопросов патогенетического обоснования механизмов формирования патологии, а известным специалистом в этой области знаний является академик РАН, д.м.н., проф. Черешнев В.А., приняла решение утвердить академика РАН, д.м.н., проф., Черешнева В.А. вторым научным руководителем по диссертационной работе Шинвари Хайбера.

По итогам обсуждения принято следующее **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Личное участие автора в получении научных результатов.

Личный вклад соискателя состоит в получении им исходных данных, апробации результатов исследования, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Проверка первичной документации проведена комиссией в составе: зав. лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, д.м.н., профессора Гусева Е.Ю., ученого секретаря Института иммунологии и физиологии УрО РАН, к.б.н. Храмцовой Ю.С., с.н.с. лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, к.м.н. Соломатиной Л.В. (в соответствии с приказом ИИФ УрО РАН от 05.04.2023г. № 10А). Первичная документация соответствует материалам исследования, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Составлен акт проверки достоверности первичной документации от 07.04.2023 г.

Актуальность проблемы. Иммунная система – это сложная биологическая система, предназначенная для борьбы с чужеродными антигенами, для распознавания чужеродных внешних и внутренних антигенов, для уничтожения инфицированных и аномально развивающихся клеток, а также для контроля толерантности к аутоантигенам и комменсальной микробиоте, выполняющая важнейшую биологическую задачу сохранения вида.

Вследствие этого врожденные ошибки иммунитета или первичные иммунодефициты могут приводить к повышенной восприимчивости к инфекциям, аутоиммунным процессам, аутовоспалительным заболеваниям, злокачественным опухолям или аллергии. Причиной этому могут быть, в первую очередь, генетические изменения как на уровне генома, так и отдельных генов, кодирующих протеиновые молекулы, участвующие в обеспечении иммунных механизмов.

Несмотря на то, что до недавнего времени врожденные ошибки иммунитета (ВОИ) считали редкими болезнями, а отдельные генетические нарушения могут встречаться нечасто, в совокупности они могут поражать значительное число людей. Более того, в результате улучшения диагностики и развития технологий секвенирования следующего поколения (NGS), за последние годы констатируемая распространенность первичных иммунодефицитов (ПИД) увеличилась до 40 на 100 000 населения.

Для разработки новых методов диагностики и терапии иммунопатологии необходимо глубокое понимание реализации иммунных функций в организме. Появление высокопроизводительных биологических методов позволило получить беспрецедентное представление о молекулярных механизмах, лежащих в основе функционирования иммунной системы и её взаимосвязи с другими системами организма. Однако огромная сложность анализируемых параметров,

охватывающая несколько порядков пространственных и временных масштабов, может быть постигнута только с помощью системной вычислительной иммунологии - в частности, путем использования вычислительных подходов обработки и моделирования больших иммунологических данных.

Поэтому в работе были использованы методы биоинформационного анализа при отдельных синдромах, развивающихся в результате врожденных ошибок иммунитета. Для этого были отобраны три патологии – врожденная нейтропения (одна из самых распространенных форм ПИД), синдром Хеннекама (одна из самых редких), а также дефицит RBSK1, относящийся к аутовоспалительным синдромам ПИД, но при этом с повышенной восприимчивостью к пиогенным инфекциям. Дефицит RBSK1 впервые был описан в 2012 году, синдром Хеннекама в 1989 г., а первые открытия в генетике врожденной нейтропении относятся к 1999 г.. Тем не менее, до настоящего времени диагностика каждого из этих синдромов представляет сложность, продолжают выявляться новые варианты генов, которые приводят к фенотипам этих болезней, а точные механизмы патологии синдрома Хеннекама и дефицита RBSK1 остаются предметом дискуссии.

Кроме того, важно не только выявить варианты генов, но и доказать их влияние на конечный продукт - белок, дестабилизацию структуры которого возможно оценить инструментами *in silico*. Это позволит ускорить оценку патогенности варианта гена, а также включить выявленные варианты в список причиннозначимых для ускорения диагностики, а также приблизиться к разработке методов патогенетической или генотерапии, что является конечной целью при исследовании врожденной патологии человека.

Научная новизна исследования. Впервые выявлены различия экспрессии генов в мононуклеарах периферической крови у лиц с дефицитом RBSK1 и относительно здоровых лиц.

Впервые выявленные новые патогенные варианты генов *TCIRG1* и *ELANE*, также, как и уже опубликованные варианты nsSNP, были проанализированы на предмет их влияния на соответствующие белки.

Впервые выявлены новые гены-кандидаты врожденной нейтропении, которые в будущем могут быть использованы для диагностики болезни и разработки патогенетически обоснованных методов лечения.

Впервые выявленные новые несинонимичные однонуклеотидные полиморфизмы (nsSNP) в причиннозначимых генах синдрома Хеннекама

(*CCBE1*, *FAT4* и *ADMATS3*) были определены вместе с ранее опубликованными вариантами как оказывающие значительное влияние на структуру и функцию этих белков.

Результаты получены впервые и сопоставимы с российским и мировым уровнями исследований.

Апробация работы. Основные положения диссертации были представлены на Международном Евро-Азиатском Конгрессе по вопросам биоэтики, молекулярной и персонализированной медицины "Biomed-inn-2019" (Пермь, 08.11.2019), Международной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 21.11.2020), Российской конференции с международным участием «Экспериментальная и компьютерная биомедицина» памяти члена-корреспондента РАН Владимира Семёновича Мархасина (Екатеринбург, 28.05.2021), Второй международной конференции «Врач – Пациент – Общество: иммунология и генетика 2022» (Екатеринбург, 25.05.2022).

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость исследования заключается в получении с помощью разработанной программы последовательного использования методов биоинформационного анализа, включая симуляцию молекулярной динамики, новых данных о генетико-фенотипических взаимосвязях, составляющих патогенетическую основу формирования болезней, ассоциированных с врожденными ошибками иммунитета, а именно: дефицита *RBSK1*, врожденной нейтропении и синдрома Хеннекама. Это позволит использовать полученные сведения в дальнейших исследованиях при поиске терапевтических мишеней при данных болезнях.

Практическая значимость исследования заключается в открывающейся возможности использования предсказанных вариантов генов в дифференциально-диагностическом процессе при определении таких синдромов первичных иммунодефицитов, как дефицит *RBSK1*, врожденная нейтропения и синдром Хеннекама.

Разработанная программа последовательного использования методов биоинформационного анализа может быть использована при поиске новых генов-кандидатов болезней, ассоциированных с врожденными ошибками иммунитета.

Ценность научных работ соискателя. Научные работы Шинвари Хайбера опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в МБД WoS и Scopus. Публикации используются в исследовательской деятельности научных работников и медицинских специалистов, занимающихся проблемами диагностики и лечения болезней, ассоциированных с врожденными ошибками иммунитета.

Внедрение в практику. Результаты исследования внедрены в учебный процесс аспирантуры Института иммунологии и физиологии УрО РАН и кафедры иммунохимии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России, а также в научно-исследовательскую практику лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН. Полученные результаты внедрены в практику работы ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка».

Специальность, которой соответствует диссертация. По объему и новизне полученных автором данных, разработанных теоретических положений диссертационная работа Шинвари Хайбера на тему «НОВЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ В ОЦЕНКЕ ВРОЖДЕННЫХ ОШИБОК ИММУНИТЕТА: ДЕФИЦИТ RVSK1, ВРОЖДЕННАЯ НЕЙТРОПЕНИЯ, СИНДРОМ ХЕННЕКАМА» полностью соответствует паспорту научной специальности: 3.2.7. Иммунология, биологические науки.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 13 работ, из них в изданиях, рецензируемых ВАК, имеющих категорию К-1, опубликовано – 4 статьи, индексируемых в МБД Scopus, квартиль Q1 – 2 статьи, индексируемых в МБД WoS и Scopus, квартиль Q2 - 1 публикация, в МБД Scopus Q3 и Q4 - 6 статей. Изложенные материалы полностью отражают результаты диссертационной работы.

Наиболее значимые публикации:

1. Роль врожденных ошибок иммунитета в группе детей с летальными исходами на первом году жизни / Д.А. Черемохин, И.А. Тузанкина, В.А. Черешнев, М.А. Болков, Х. Шинвари // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25 (4). С. 555-560. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1185-ROI>.

2. Классификация врожденных ошибок иммунитета человека, обновленная экспертами комитета международного союза иммунологических обществ в 2019 году / М.А. Болков, И.А. Тузанкина, Х. Шинвари, Д.А. Черемохин // Российский

иммунологический журнал. 2021. Т. 24 (1). С. 7-68. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-975-TIR>.

3. Ретроспективный анализ случаев первичных иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца / С.С. Дерябина, Д.А. Черемохин, И.А. Тузанкина, Х. Шинвари // Российский иммунологический журнал. 2020. Т. 23, № 4. С. 505-514. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-492-ARA>.

4. Фенотипические варианты манифестации гомозиготной делеции сегмента хромосомы 1, захватывающей участки гена CFHR3 / И.А. Тузанкина, М.А. Болков, Н.С. Журавлева, Ю.О. Васенева, Х. Шинвари, О.В. Щипачева // Медицинская иммунология. 2020. Т. 22 (3). С. 569-576. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-PMO-1901>.

5. Additional Pathogenic Pathways in RBCK1 Deficiency / E.I. Demicheva, K. Shinwari, K.S. Ushenin, M.A. Bolkov // Mathematical Biology and Bioinformatics. 2022. V. 17 (2). P. 174-187. <https://doi.org/10.17537/2022.17.174>.

6. Analysis of the TREC and KREC Levels in the Dried Blood Spots of Healthy Newborns with Different Gestational Ages and Weights / D.A. Cheremokhin, K. Shinwari, S.S. Deryabina, M.A. Bolkov, I.A. Tuzankina, D.A. Kudlay // Acta naturae. 2022. V. 14 (1). P. 101–108. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11501>.

7. Identifying Main Genes and Pathways by Using Gene Expression Profiling in Primary Immunodeficiency HOIL-1/RBCK1 Disorder Patients / K. Shinwari, G. Liu, M.A. Bolkov, M. Ullah, I. Tuzankina // Acta Med Iran. 2021. V. 59 (5). P.265-279.

8. Is Up-Regulation Gene Expression of the Certain Genes During the Viral Respiratory Tract Infection Would Have Any Influence in Pathogenesis of the SAR-CoV-2 Infection? / K. Shinwari, G. Liu, M. Bolkov, I. Ahmad, M. Daud, I. Tuzankina, V. Chereshevnev // Acta Med Iran. 2020. V. 58 (5). P. 246-248.

Рекомендации к защите диссертации с учетом научной зрелости соискателя. Шинвари Хайбер является сформировавшимся исследователем. Его диссертационная работа является самостоятельно выполненным научно-квалификационным исследованием, которое вносит существенный вклад в специальность 3.2.7. Иммунология, т.к. в исследовании получены новые данные о генетико-фенотипических взаимосвязях, составляющих патогенетическую основу формирования болезней, ассоциированных с врожденными ошибками иммунитета, а именно: дефицита RBCK1, врожденной нейтропении и синдрома Хеннекама. Диссертационная работа по актуальности проблемы,

новизне результатов, научно-практическому значению соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении учёных степеней», (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изм., утв. от 30.07.2014 № 723, 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, ... ред. 16.03.2023), а ее автор по своим профессиональным качествам достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Диссертация «НОВЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ В ОЦЕНКЕ ВРОЖДЕННЫХ ОШИБОК ИММУНИТЕТА: ДЕФИЦИТ RVSK1, ВРОЖДЕННАЯ НЕЙТРОПЕНИЯ, СИНДРОМ ХЕННЕКАМА» Шинвари Хайбера рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Заключение принято на заседании совместной проблемной комиссии Института иммунологии и физиологии УрО РАН и Химико-технологического института ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России, проведенной на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Присутствовало на заседании 17 членов проблемной комиссии Института и 3 представителя Химико-технологического института ФГАОУ ВО «УрФУ» Минобрнауки России. Результаты голосования: «за» - 20 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 4 от 10 апреля 2023 года.

Председатель заседания проблемной комиссии
ИИФ УрО РАН,
чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ

Секретарь проблемной комиссии



Б.Г. Юшков

Е.Н. Денкс