

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук Ворониной Елены Николаевны на диссертацию Васильева Филиппа Филипповича

**«Ассоциация аллельных вариантов генов рецепторов TNF $\alpha$  и IL1 с уровнем экспрессии их мембраносвязанных и растворимых рецепторов»**, представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – «Клиническая иммунология, аллергология»

Фактор некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) и интерлейкин-1 (IL-1) являются медиаторами системной воспалительной реакции, действующими через активацию специфических рецепторов. Изучение рецепторов к TNF $\alpha$  и IL-1, контролирующих активность этих цитокинов, является важной задачей при исследовании механизмов развития и течения заболеваний. Полиморфные варианты данных генов могут определять предрасположенность индивидов к развитию заболеваний, определять их прогноз и течение. Однако, на данный момент нет четких структурированных знаний об влиянии однонуклеотидных замен в генах рецепторов к TNF $\alpha$  и IL-1 на уровень экспрессии и функциональную активность данных молекул. Таким образом, тема диссертационной работы Васильева Ф.Ф. «Ассоциация аллельных вариантов генов рецепторов TNF $\alpha$  и IL1 с уровнем экспрессии их мембраносвязанных и растворимых рецепторов», несомненно, является актуальной и представляет большой научно-практический интерес.

Работа изложена на 147 страницах машинописного текста, построена классическим образом и включает: введение; 4 главы: обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований и обсуждения полученных результатов; заключение; выводы; список литературы, содержащий 373 источников (9 отечественных и 364 зарубежных). Работа иллюстрирована 18 рисунками и 8 таблицами.

Автором сформулирована цель исследования: изучить влияние аллельных вариантов генов рецепторов к TNF $\alpha$  и IL1 на уровень их экспрессии. Задачи, поставленные автором, соответствуют цели научного исследования и согласуются с непосредственным содержанием работы.

В первой главе диссертации, обзоре литературы, подробно рассмотрены мембраносвязанные и растворимые рецепторы к цитокинам TNF $\alpha$  и IL-1, описана их структура, сигнальные пути. Особое внимание уделено функциям данных рецепторов. Отдельно представлены сведения о полиморфизме генов данных рецепторов.

Вторая глава содержит сведения об использованных материалах и методах исследования. Для выполнения поставленных задач исследования автором был оптимизирован протокол пробоподготовки для определения уровня экспрессии мембраносвязанных рецепторов к TNF $\alpha$  и IL-1 методом проточной цитометрии. Для анализа аллельного полиморфизма изучаемых генов автор использовал метод ПДРФ-анализа, однако в описании данного метода не приведены длины получаемых амплификационных фрагментов и фрагментов после обработки эндонуклеазами рестрикции. Не указано проводилось ли подтверждение правильности генотипирования, особенно для систем разработанных лично автором.

В третьей главе диссертации изложены результаты собственных исследований, где приводятся данные, полученные при анализе уровня экспрессии мембраносвязанных и растворимых рецепторов к TNF $\alpha$  и IL-1. Приведены результаты ассоциативных исследований полиморфных вариантов генов рецепторов с уровнем представленности рецепторов на мембранах различных популяций мононуклеарных клеток, а также количеством их растворимых форм. Диссертантом получены результаты, свидетельствующие о том, что исследованные полиморфные варианты генов рецепторов к TNF $\alpha$  и IL-1 являются функциональными. Некоторые результаты, однако, выглядят с точки зрения генетики нелогичными – например, увеличение количества рецептора наблюдается только для гетерозигот. Причины возникновения таких результатов не обсуждаются в работе, но, я надеюсь, будут разобраны в дальнейших работах диссертанта.

В главе «Обсуждение полученных результатов» диссертационной работы Васильева Ф.Ф. обобщены результаты проведенных исследований и сопоставлены с результатами зарубежных исследователей, полученными ранее по рассматриваемой тематике. На мой взгляд, в диссертации не хватает обсуждения причин обнаруженной разницы в экспрессии рецепторов в разных популяциях мононуклеарных клеток. Также данную главу стоило разбить на подзаголовки, соответствующие главе «Результаты» для лучшего восприятия текста. Обоснованность научных положений, выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Список литературы содержит достаточное количество современных и зарубежных источников.

Диссертация написана строгим научным языком, практически не содержит грамматических ошибок. Все результаты, полученные автором, корректно обсуждены и проанализированы с позиций данных современной научной литературы. Основные результаты диссертации изложены в 13 печатных работах, из них 6 публикаций в ведущих научных периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов кандидатских диссертаций. Результаты исследований были представлены на общероссийских и международных научных форумах и конференциях.

При прочтении работы у меня появились следующие замечания:

1. Описание метода ПДРФ-анализа следовало провести более подробно и аккуратно, желательно с приведением в качестве примеров первичных результатов. Это один из основных методов, на основе которого получено значительное количество экспериментальных данных в диссертации, и к его описанию надо было отнестись более тщательно.
2. При исследовании нескольких полиморфных локусов в одном промоторном районе не проведена оценка неравновесия по сцеплению, ассоциация с гаплотипами, что имеет более понятный биологический смысл, чем рассмотренные комбинации генотипов.

Все сказанное позволяет мне высоко оценить диссертационную работу Васильева Ф.Ф., а приведенные замечания, ни в коей мере, не умаляют научно-практической значимости диссертационной работы.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и оформлен в соответствии с предъявляемыми к нему требованиями.

Таким образом, диссертационная работа Васильева Ф.Ф. на тему «Ассоциация аллельных вариантов генов рецепторов TNF $\alpha$  и IL1 с уровнем экспрессии их мембраносвязанных и растворимых рецепторов», является законченной научно-

квалифицированной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Сенникова С.В. Диссертационная работа соответствует требованиям п.9, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. №842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – «Клиническая иммунология, аллергология».

Официальный оппонент,  
кандидат биологических наук, научный  
сотрудник лаборатории  
фармакогеномики Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки «Институт  
химической биологии и  
фундаментальной медицины»  
Сибирского отделения Российской  
академии наук



Воронина Елена  
Николаевна

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук защищена по  
специальности: 03.00.03 – молекулярная  
биология

Подпись Ворониной Е.Н. заверяю:  
Ученый секретарь, к.х.н.



Пестряков Павел  
Ефимович

**Реквизиты:**

630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8,  
тел.: (383) 363-51-50, voronina\_1@inbox.ru