

ОТЗЫВ

официального оппонента, руководителя лаборатории регуляции экспрессии генов
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»,
д.б.н., профессора Т.И. Меркуловой
на диссертацию Шевченко Аллы Владимировны
«Иммуногенетический анализ полиморфизма генов цитокинов, матричных
металлопротеиназ и фактора роста эндотелия сосудов при ряде
мультифакториальных заболеваний», представленную на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности 14.03.09 «Клиническая
иммунология, аллергология»

Актуальность научного исследования А.В. Шевченко не вызывает сомнения, т.к. оно посвящено изучению полиморфизма генов-кандидатов широко распространенных мультифакториальных заболеваний (МФЗ), являющихся причиной высокой летальности и инвалидизации населения, причем в трудоспособном возрасте. Патогенез рассматриваемых в работе заболеваний сложен, в его основе лежат как экзогенные, так и эндогенные факторы. Изучение наследственной компоненты подверженности мультифакториальным заболеваниям является одной из актуальных задач медицинской науки и имеет большое прикладное значение. В настоящее время во всем мире проводятся широкомасштабные исследования, посвященные изучению связи вариаций геномной ДНК с различными патологиями. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) — наиболее распространенный и интенсивно изучаемый тип полиморфизма последовательностей ДНК. SNPs в 5' и 3' регуляторных областях генов, анализируемые автором в работе, могут изменять последовательности сайтов связывания транскрипционных факторов, влияя на их сродство к этим регуляторным белкам и тем самым изменяя уровень экспрессии генов. SNPs, локализованные в 3' нетранслируемых областях могут также влиять на экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Поскольку в настоящее время среди SNPs с установленной связью с заболеваниями доля регуляторных SNPs не превышает 3% от общего числа, выбор автором диссертации именно таких SNPs для исследования является дополнительным фактором, повышающим его актуальность.

Диссертационная работа Аллы Владимировны выполнена в рамках одного из наиболее перспективных направлений современной иммунологии и медицинской генетики - выяснению роли иммуногенетических факторов при

ряде широко распространенных МФЗ. Она посвящена иммуногенетическому анализу полиморфизма генов цитокинов, матричных металлопротеиназ и фактора роста эндотелия сосудов при ишемической болезни сердца (ИБС), сахарном диабете второго типа (СД2), ревматоидном артрите (РА), раке молочной железы (РМЖ). Несомненным достоинством работы является комплексный подход к анализу генотипов, ассоциированных с анализируемыми патологиями, а также его сочетание с непосредственным определением уровня белковых продуктов изучаемых генов. Эти исследования способствуют развитию современной концепции здравоохранения — персонализированной медицины, которая предполагает учет индивидуальной генетической предрасположенности пациента к разным заболеваниям, воздействиям лекарственных препаратов и т. п. Кроме того, автор видит своей задачей не только поиск генов-кандидатов при определенном заболевании, но и анализ общих иммуногенетических закономерностей, характерных для развития четырех различных заболеваний.

Новизна исследования определяется прежде всего тем, что впервые показано значительное снижение частоты, либо полное отсутствие ряда комплексных генотипов в возрастных группах старше 55 лет по сравнению с группой до 55 лет у практически здоровых жителей Западной Сибири.

Кроме того, получены новые данные об ассоциированности потенциально регуляторных полиморфизмов комплекса генов цитокинов (*TNF α* , *IL1 β* , *IL4*, *IL6*, *IL10*), матричных металлопротеиназ (*MMP2*, *MMP3*, *MMP9*) и фактора роста эндотелия сосудов *VEGF* с развитием СД2, РА, РМЖ, ИБС.

Также впервые выявлена ассоциированность генетических маркеров воспаления, деструкции и ангиогенеза с уровнями кардиологических маркеров *TNF α* , *IL1B*, *IL1RA*, *IL6*, *IL8*, *СРБ*, *MMP3*, *MMP9* в сыворотке крови пациентов с коронарным атеросклерозом; показана связь между сывороточным уровнем факторов инсулинорезистентности и комплексными генотипами, в состав которых входят полиморфные позиции генов *TNF- 863,-308,-238*, *IL1B-31*, *IL6-174*, *IL10-592*, *VEGF-2578*; а также между сывороточным уровнем ревматоидного фактора и С-реактивного белка с полиморфными комплексами генов цитокинов *TNF- 863,-308,-238*, *IL1B-31*, *IL4-590*, *IL6-174*, *IL10-592* и гена фактора роста эндотелия сосудов *VEGF*.

На основе многомерного анализа выявлены как ассоциированные с заболеванием комплексные генотипы предрасположенности и резистентности к определенным анализируемым МФЗ, так и комплексные генотипы, синтропные для развития ИБС, СД2, РМЖ, РА.

Научная и практическая значимость работы. Диссертационное исследование А.В. Шевченко обладает научной и практической значимостью.

Автором получены новые данные об ассоциированности ряда однонуклеотидных замен в регуляторных районах генов воспаления, деструкции и ангиогенеза и комплексов этих замен с развитием ишемической болезни сердца, сахарного диабета второго типа, рака молочной железы, ревматоидного артрита и их клиническими проявлениями. При этом важно то, что анализируются не отдельные генотипы, а комплексы, образующие генную сеть. Это с большей долей вероятности позволяет выявлять группы повышенного риска развития анализируемых заболеваний и может быть использовано как дополнительный критерий раннего выявления болезни. Кроме того, как теоретический, так и практический интерес представляют данные об ассоциированности генетических комплексов с продукцией ряда кардиологических маркеров, регистрируемых в сыворотке крови, а именно, маркеров инсулинорезистентности, С-реактивного белка и ревматоидного фактора в группах больных коронарным атеросклерозом, сахарным диабетом и ревматоидным артритом соответственно.

Результаты исследования внедрены в научный процесс лабораторий эндокринологии и патологии соединительной ткани НИИ клинической и экспериментальной лимфологии «НИИКЭЛ», в работу терапевтического и консультативного отделений клиники «НИИКЭЛ», научный и лечебный процесс НИИ терапии и профилактической медицины «НИИТПМ» как дополнительный критерий выявления РА, СД2, ИБС и вариантов их течения.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов.

Результаты исследований и сделанные на их основании выводы представляются достоверными, что обусловлено достаточным по объему количеством обследованных: 353 пациента с ИБС, 83 пациента со стенозирующим коронарным атеросклерозом, 316 пациенток с СД2, 395 пациенток с РМЖ и 162 пациентки с РА. Все группы пациентов клинически грамотно описаны, приведены критерии включения в группы и исключения. Кроме того, предварительно обследована группа здоровых жителей Западной Сибири (603 человека), являющаяся контрольной. В работе использованы современные высокоинформативные методы лабораторных исследований, для обработки полученных данных применены адекватные методы статистической обработки, и те, и другие квалифицированно и подробно описаны.

Цель исследования четко сформулирована, соответственно цели поставлены задачи, которые логично решались в ходе работы. Выводы, которые делает диссертант, вытекают из результатов проведенного исследования, убедительны и соответствуют поставленной цели и задачам работы.

Изложенные в диссертации научные результаты представлены в 76 работах, включая 41 публикацию в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Основные результаты доложены на международных и региональных конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа построена по традиционному типу, изложена на 389 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, шесть глав собственных результатов, заключение и выводы, библиографический список и приложения.

Во введении убедительно показана актуальность избранной темы, определены цель и задачи исследования. Заслуживает высокой оценки аналитический обзор литературы, который представляет собой достаточно полную и хорошо систематизированную подборку сведений по теме диссертации. В обзоре приведены современные представления о роли иммуногенетических механизмов в развитии мультифакториальных заболеваний, рассмотрены вопросы участия медиаторов воспаления, деструкции, ангиогенеза, а также полиморфизма кодирующих их генов в патогенезе ИБС, СД2, РМЖ и РА. Отдельная глава посвящена особенностям иммуногенетических взаимодействий при развитии мультифакториальных заболеваний. Однако, в связи с очень большим объемом анализируемого автором фактического материала, было бы весьма желательно завершить обзор литературы главой «Заключение», в которой в концентрированном виде были бы представлены сведения о том, что известно и что неизвестно о роли выбранных автором полиморфизмов в развитии ИБС, СД2, РМЖ и РА. Пока же эти сведения рассыпаны по всему тексту обзора, что несколько затрудняет их восприятие.

В главе «Материалы и методы» изложено описание сформированных групп пациентов и здоровых доноров, детально описаны используемые в работе методы исследования и методы статистической обработки, которые можно охарактеризовать как современные и высокоинформативные.

Каждая глава собственных исследований посвящена отдельному заболеванию (ИБС, СД2, РМЖ, РА). Автор подробно освещает полученные результаты по генетической ассоциированности отдельных генотипов с патологией и рядом клинических особенностей, проводит анализ ассоциированности уровня соответствующих белковых продуктов с генотипами анализируемых генов, осуществляет комплексный анализ генотипов, позитивно/негативно ассоциированных с патологией. В отдельной главе проводится анализ группы сравнения в сопоставлении со здоровыми

лицами других популяций, анализ комплексных генотипов в группах разного пола и возраста. Последняя глава результатов собственных исследований посвящена сравнительному анализу общих и частных комплексных генотипов, ассоциированных с анализируемыми мультифакториальными заболеваниями. Каждая глава собственных исследований подробно иллюстрирована таблицами. В конце каждой главы собственных исследований приводится обсуждение, где всесторонне анализируются полученные результаты, проводится подробный сравнительный анализ полученных данных с результатами, представленными в зарубежной и отечественной литературе.

В заключении автор резюмирует проделанную работу и полученные в ней результаты.

Выводы, которые делает диссертант, логично вытекают из результатов проведенного исследования, убедительны и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Список литературы представлен 594 источниками, 74 из которых — работы отечественных авторов.

Вопросы и замечания. Диссертационная работа А.В. Шевченко написана доступным языком, изложение материала научное, все разделы логически связаны между собой. Основным вопросом, возникающим по прочтении данной работы, является вопрос о том, почему полученные результаты опубликованы только в отечественных научных журналах. Это закономерный вопрос, поскольку многие из полученных автором данных по своей оригинальности и значимости представляют интерес для международного сообщества иммунологов и медицинских генетиков, и при соответствующих компановке и подаче материала вполне могли бы быть опубликованы в международных рейтинговых журналах. Кроме того, в работе встречаются синтаксические ошибки, стилистические погрешности (типа «SNP полиморфизм», уместнее писать однонуклеотидный полиморфизм), лабораторный жаргон и англицизмы (например, «рецептор эстрогена» – по-русски - эстрогенов). Однако указанные недостатки не влияют на научно-практическую ценность диссертации А.В. Шевченко.

Заключение. Диссертационная работа Шевченко Аллы Владимировны на тему «Иммуногенетический анализ полиморфизма генов цитокинов, матричных металлопротеиназ и фактора роста эндотелия сосудов при ряде мультифакториальных заболеваний» является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором представлены актуальные для иммунологии данные об ассоциированности полиморфизма генов воспаления,

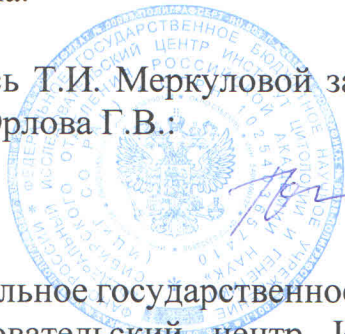
деструкции и ангиогенеза и их комплексных генотипов с такими социально значимыми МФЗ, как ИБС, РА, РМЖ, СД2, и их клиническими проявлениями; а также представлены результаты ассоциированности генотипов с уровнем соответствующих маркеров в сыворотке крови при ИБС, СД2 и РА. По актуальности темы работы, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, обоснованности научных выводов, научной и практической значимости работа Шевченко А.В. соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор достоин присуждения искомой степени по специальности 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология».

Официальный оппонент
руководитель лаборатории
регуляции экспрессии генов
ИЦиГ СО РАН
д.б.н., профессор

Татьяна Ивановна Меркулова

Диссертация официального оппонента на соискание ученой степени доктора биологических наук защищена в 2002 году по специальности генетика.

Подпись Т.И. Меркуловой заверяю, ученый секретарь ФИЦ ИЦиГ СОРАН,
к.б.н. Орлова Г.В.:



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Адрес: просп. Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090 Россия

Тел.: +7 (383) 363-49-80

E-mail: merkulova@bionet.nsc.ru