

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**на диссертационную работу Бочаровой Анны Владимировны
«Вариабельность генетических маркеров шизофрении и болезни Альцгеймера
в популяциях Северной Евразии», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика**

Актуальность темы диссертационной работы

Заболевания, сопровождающиеся нарушениями когнитивных функций человека, являются серьезной медико-социальной проблемой современного общества. Наиболее распространенными патологиями в данной группе являются шизофрения (ШЗ) и болезнь Альцгеймера (БА). Оба эти расстройства представляют собой широко распространенные многофакторные заболевания (МФЗ), в развитии которых имеют значение генетические и средовые факторы. Кроме того, генетические особенности индивида в значительной мере определяются его принадлежностью к определенной этнической группе. В настоящее время показано, что существует генетическая дифференциация популяций по генам, ассоциированным с распространенными МФЗ. Известно, что различия в частотах аллелей генов подверженности таким заболеваниям могут быть причиной межэтнических различий в распространенности этих патологий. Особый интерес для исследователя представляют коренные этносы Северной Евразии. Народы Северной Евразии были длительно изолированы друг от друга, что обеспечило формирование уникального генофонда. В связи с этим, исследования генофонда популяций Северной Евразии по генам распространенных болезней значительно расширяют представление о генетическом разнообразии народонаселения. Современный поиск наследственных факторов БА и ШЗ предполагает системный подход с вовлечением больших массивов данных и современных технологий научных исследований. Принимая во внимание вышеизложенное, представляется актуальным изучение вовлеченности генетических маркеров в наследственную компоненту шизофрении и болезни Альцгеймера, а также изучение вариабельности генов таких заболеваний у представителей разных этно-территориальных групп.

Научная новизна исследования

В данной работе получены новые знания об особенностях структуры генофонда населения Северной Евразии по комплексу генетических маркеров, ассоциированных с шизофренией и болезнью Альцгеймера. Были впервые получены частоты большинства исследованных генетических вариантов в выборках больных шизофренией, болезнью Альцгеймера и в 16 популяциях Северной Евразии. Впервые оценена роль естественного отбора в формировании генетического разнообразия по комплексу маркеров, ассоциированных с болезнью Альцгеймера и шизофренией. Впервые охарактеризована генетическая компонента двух распространенных заболеваний, приводящих к нарушениям когнитивных функций человека, в шестнадцати популяциях Северной Евразии. Большая часть полученных при репликативном анализе ассоциаций генетических маркеров с шизофренией и болезнью Альцгеймера, была идентифицирована впервые для населения России и Казахстана. Анализ межгенных взаимодействий позволил выявить генные комбинации, ассоциированные с высоким и низким риском шизофрении или болезни Альцгеймера.

Теоретическая и практическая значимость.

Новые данные, полученные в ходе настоящего исследования, расширили и дополнили фундаментальные знания и представления о генетическом разнообразии населения Северной Евразии, о существенной роли естественного отбора в популяциях Северной Евразии при формировании генетического разнообразия по полиморфным вариантам и генам, которые вносят вклад в формирование генетической компоненты болезни Альцгеймера и шизофрении. На основании результатов диссертационной работы разработаны методические рекомендации по новой медицинской технологии «Генетическое тестирование когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера». Предложенный в исследовании мультиплексный протокол генотипирования может быть использован в дальнейших экспериментальных исследованиях по генетике МФЗ и популяционной генетике человека. Материалы работы могут быть внедрены в научно-образовательный процесс при обучении студентов медицинского и биологического профиля.

Оценка содержания диссертационного исследования.

Цель исследования сформулирована корректно, соответствует теме диссертационной работы и в полном объеме раскрыта в поставленных задачах. Научные положения, выносимые на защиту, аргументированы и подтверждаются результатами проведенного исследования.

Научно-исследовательская работа изложена на 283 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, приложения. Работа проиллюстрирована 31 рисунком и 37 таблицами (11 из которых находятся в приложении). Библиографический указатель содержит 567 источников, из них 82 отечественных и 485 зарубежных.

Введение написано очень хорошо и шире, чем это обычно делается в работах на соискание ученой степени кандидата наук, когда характеризуют обычно актуальность предмета исследований. Автором представлены актуальность, основные методологические проблемы генетики МФЗ, перспективные направления исследований. В качестве таковых автор полагает: этнотерриториальную специфику популяций, межпопуляционную вариабельность полиморфных вариантов (SNP маркеров), межгенные взаимодействия, действие естественного отбора (эволюционный аспект).

Глава «Обзор литературы» содержит современные сведения об этиологии и патогенезе ШЗ и БА, негенетических и генетических факторах риска развития этих заболеваний, включая работы 2019 - 2020 гг. Весьма уместны в контексте работы сведения об эндофенотипах ШЗ. Резюмируя литературные данные по ШЗ, автор указывает на то, что недостаточно изученными остаются вопросы этиологической гетерогенности этого заболевания, сложных взаимодействий генов между собой, а также взаимодействия генов с окружающей средой и вопросы недостаточного понимания патофизиологии ШЗ. В обзоре рассмотрены основные гипотезы развития ШЗ (рецепторно-нейрохимическая, дизонтогенетическая, генетическая) и БА (гипотеза амилоидного каскада и гипотеза митохондриального каскада).

Подводя итоги обзора литературы в целом, автор отмечает значение работ, изучающих общую генетическую составляющую психических и

нейродегенеративных расстройств, недостаточное количество работ по межгенным и белок-белковым взаимодействиям с привлечением инструментов биоинформатики, работ по изучению вариабельности генов таких заболеваний как ШЗ и БА у представителей разных этнических групп и работ, показывающих роль эволюции популяций и этносов человека в распространенности многофакторных заболеваний. Работа, сделанная автором, восполняет этот дефицит в отношении популяций Северной Евразии.

Глава «Материалы и методы». Работа выполнена на достаточных по величине группах больных болезнью Альцгеймера и здоровых русских, больных шизофренией и здоровых русских и казахов, а также выборках из 16 популяций: русские, удмурты, ханты, хакасы, киргизы северные и южные, якуты, буряты, нивхи, чукчи, казахи, узбеки, алтайцы, якуты и тувинцы. Автор использует в своей работе современные методы генетических исследований: генотипирование SNP-маркеров с использованием ПЦР с детекцией в реальном времени и MALDI-TOF масс-спектрометрии. Проводит биоинформатический анализ полученных результатов с использованием интернет ресурсов и необходимых статистических методов. Всё это свидетельствует о высокой квалификации автора работы.

В главе «Результаты и обсуждение» приведены итоги научно-исследовательской работы, которые изложены достаточно обстоятельно, понятно и хорошо иллюстрированы. Описаны и обсуждены идентифицированные ассоциации генетических маркеров с ШЗ или БА, определены частоты аллелей и генотипов у больных ШЗ и БА, имеющих рисковую значимость для этих заболеваний по данным литературы. Проанализированы межгенные взаимодействия, оказывающие влияние на фенотипический признак (наличие ШЗ или БА). Для понимания молекулярных механизмов, связанных с изученными генами, которые могут быть причастны к патогенезу БА и ШЗ, автором проведена аналитическая работа с привлечением интернет-ресурсов GMDR, WebGestalt, GeneOntology, STRING, в результате которой описаны биологические процессы, молекулярные функции и клеточные компартменты, в которых могут реализоваться эффекты изученных генов. Кроме того, этот анализ позволил выявить гены и белки, не очевидные при анализе только отдельных SNP-маркеров. Так, анализ белок-белковых взаимодействий показал важную роль белка RELN в качестве

связующего звена между группами генов, участвующих в формировании риска ШЗ и БА. Примечательно, что большая часть этих находок связана с регуляторными процессами и развитием нервной системы. Проведена оценка генетической дифференциации популяций Северной Евразии. Автором получены характеристики внутри- и межпопуляционного генетического разнообразия 28 маркеров в шестнадцати популяциях Северной Евразии. Выявлен большой уровень разнообразия в европеоидных популяциях (русские, удмурты, узбеки) в сравнении с другими. Выделены 2 группы маркеров, предковые аллели которых преобладают либо у европеоидов (rs12922317 гена *SNX29*, rs1466662 гена *DCHS2*, rs1635 гена *NKAPL*, rs561655 межгенного региона *PICALM / RNU6-560P*, rs7561528 гена *LOC105373605*), либо у монголоидов (rs433598 гена *ACSM1* и rs4765905 гена *CACNA1C*). Отмечены вероятные признаки расовой и этнической специфичности в подверженности БА (rs561655 вблизи генов *PICALM* и *RNU6-560P*) и ШЗ (rs1466662 гена *DCHS2*), всего 5 маркеров. При оценке селективной нейтральности маркеров выявлено 10 полиморфных вариантов генов, показавших отклонение от селективной нейтральности, из которых шесть были статистически значимо ассоциированы с ШЗ или БА, что свидетельствует о существенной роли естественного отбора в популяциях Северной Евразии в формировании генетического разнообразия по генам ШЗ и БА. В целом, полученные данные соответствуют пониманию болезни как результата конфликта между произошедшим в прошлом отбором генетических вариантов и требованиями сегодняшнего дня.

В Заключении автор в краткой форме подводит основные итоги работы. На основании проведенного исследования сформулированы 5 выводов, которые полностью соответствуют поставленным задачам, аргументированы, логичны и обоснованы результатами.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку обеспечивается достаточным объемом исследуемых выборок, использованием современных молекулярно-генетических методов и статистических методов обработки полученных данных.

Основные результаты диссертации неоднократно представлялись на научных мероприятиях в России и за ее пределами. По теме диссертации

опубликована 41 научная работа, в том числе 13 статей в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, включая 9 статей в журналах, реферируемых в базе данных Web of Science, и 4 статьи в журналах из базы данных РИНЦ, а также 4 статьи в сборниках и 24 тезиса в материалах отечественных и зарубежных конференций.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации и отражает актуальность, степень разработанности темы, научную новизну, а также теоретическую и практическую значимость, содержит положения, выносимые на защиту, основные результаты исследования, выводы.

Замечания и вопросы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертации не возникло. При ознакомлении с работой возник вопрос: в чем заключались трудности определения rs1261117 гена *TCF4* и rs7004633 гена *LOC105375630* методом MALDI TOF?

Заключение.

Диссертационная работа Бочаровой Анны Владимировны «Вариабельность генетических маркеров шизофрении и болезни Альцгеймера в популяциях Северной Евразии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача по характеристике вариабельности генетических маркеров, ассоциированных по данным полногеномных исследований с шизофренией, болезнью Альцгеймера и их когнитивными эндофенотипами, у представителей разного этно-территориального происхождения, что имеет существенное значение для расширения фундаментальных знаний в области генетики многофакторных заболеваний, а также популяционной генетики.

Таким образом, считаю, что диссертационная работа Бочаровой Анны Владимировны полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016г. №335),

предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Бочарова Анна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент

И.о. директора Научно-исследовательского
института молекулярной биологии и биофизики
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Федеральный исследовательский центр
фундаментальной и трансляционной медицины»,
руководитель лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики,
член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор,

Вавилин Валентин Андреевич

Адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Тел+7(383) 334-80-06; e-mail: drugsmet@niimbb.ru;

vavavilin@ngs.ru

Ученый секретарь ФГБНУ ФИЦ ФТМ

Д.б.н.

Пальчикова Наталья Александровна

09.02.2021 г.

