

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 исследования. Проблема популяционной специфичности генетической компоненты распространенных заболеваний является одной из основных в генетике многофакторных заболеваний. Диссертация Бочаровой А.В. посвящена изучению вовлеченности генетических маркеров в наследственную компоненту болезни Альцгеймера и шизофрении и оценке их вариабельности в популяциях Северной Евразии. Полное представление об этиологии, патогенезе и наследственной компоненте данных заболеваний на сегодняшний день далеко от завершения. Длительная эволюция генофонда популяций Северной Евразии могла привести к специфическим особенностям спектра и частоты заболеваний многофакторной природы. Таким образом, актуальность исследования Бочаровой А.В. не вызывает сомнений.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа Бочаровой А.В. изложена на 283 страницах, включает 31 рисунок и 37 таблиц (11 из них - в приложении) и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материал и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы» и «Приложение». Библиографический указатель содержит 567 источников, из них 82 отечественных и 485 зарубежных. Оформление работы соответствует рекомендованным правилам оформления диссертаций.

Во «Введении» приведена общая характеристика работы, сформулированы цель и задачи исследования, определена актуальность и степень разработанности темы, оценивается научная новизна, теоретическая и практическая значимость выполненной работы. Здесь же представлены положения, выносимые диссертантом на защиту, указана степень достоверности результатов и возможности их апробации, отражено личное участие автора в выполненной работе.

Глава «Обзор литературы» содержит структурированный обзор литературы, посвященный теме диссертации. В обзоре приведены современные представления

об этиологии и патогенезе болезни Альцгеймера и шизофрении, обсуждены гипотезы о механизмах возникновения этих заболеваний, дано представление о концепции эндофенотипов. Подробно описаны современные подходы к изучению генетики сложных многофакторных заболеваний, связанных с нарушением когнитивных функций, с акцентом на важность выявления популяционно-генетических и эволюционных особенностей их возникновения.

В главе «Материал и методы» представлена характеристика клинических и популяционных выборок, которые были включены в диссертационную работу. Объемы выборок, обследуемые методом «случай-контроль», также как и популяционные выборки, репрезентативны и достаточны для проведения исследования. В этой главе представлена также методология, применяемая к выбору изучаемых генетических маркеров (SNPs). Описаны используемые современные экспериментальные молекулярно-генетические методы (ПЦР в реальном времени, масс-спектрометрия MALDI-TOF) и комплекс аналитических и статистических методов, примененных в исследовании.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» посвящена подробному описанию и обсуждению результатов собственных исследований, проведенных в несколько этапов. Эта глава подразделена на несколько разделов, соответствующих основным полученным результатам. В первом разделе приводится используемый подход к выбору генетических маркеров для предстоящего анализа и разработка протокола мультиплексного генотипирования полиморфных маркеров, ассоциированных с шизофренией, болезнью Альцгеймера и их когнитивными эндофенотипами по данным полногеномных исследований. На следующем этапе в этнически стратифицированных выборках больных и здоровых индивидуумов было исследовано генетическое разнообразие изученных маркеров, проведен репликативный анализ ассоциаций аллелей и генотипов выбранных маркеров с патологическими фенотипами (БА, болезнь Альцгеймера и Ш, шизофрения) и для части маркеров были выявлены значимые ассоциации с развитием БА или Ш. Был также проведен анализ потенциальных межгенных взаимодействий, играющих роль в риске развития БА или Ш, т.е. связи комбинаций генотипов по разным маркерам с развитием БА или Ш, и выявлены сочетания генотипов, ассоциированных с высоким или низким риском развития этих заболеваний. Кроме

того, при функциональной аннотации генов, маркеры которых показали ассоциацию с развитием БА или Ш, было показано, что часть белковых продуктов этих генов ($n=12$) объединены в общую взаимосвязанную сеть, состоящую из двух отдельных кластеров, которые связаны между собой белком рилином. На последующих этапах исследования был проведен анализ генетического разнообразия 28 SNP-маркеров, связанных с БА и Ш, в 16 популяциях Северной Евразии и была показана высокая степень их генетической дифференциации по анализируемым маркерам. В рамках этого исследования был также проведен поиск сигналов естественного отбора для исследованных локусов в популяциях Северной Евразии. Эти сигналы, отличаясь по типу отбора (направленный или балансирующий отбор), были выявлены во всех исследованных популяциях. В конце главы «Результаты и обсуждение» имеется подраздел «Основные результаты, полученные в ходе диссертационного исследования».

В разделе «Заключение» приводится обобщение всех полученных в работе результатов. Далее в работе следует «Список используемой литературы», включающий 567 работ, и «Приложение», включающее 11 таблиц.

Научная новизна. В работе получены данные, характеризующие генофонд популяций Северной Евразии по комплексу генетических маркеров, ассоциированных как с болезнью Альцгеймера, так и шизофренией. Аллельные частоты большинства исследованных генетических маркеров в выборках больных с болезнью Альцгеймера, шизофренией и в 16 популяционных выборках Северной Евразии получены впервые. Впервые зафиксирована роль естественного отбора в формировании генетического разнообразия по комплексу маркеров, ассоциированных с болезнью Альцгеймера и шизофренией. Для населения России и Казахстана получены оригинальные данные, описывающие не только ассоциации отдельных SNP-маркеров с шизофренией и болезнью Альцгеймера, но и генные комбинации, ассоциированные с высоким или низким риском этих заболеваний.

Теоретическая и практическая значимость. В диссертационном исследовании Бочаровой А.В. получены оригинальные результаты о генетическом разнообразии населения Северной Евразии по полиморфным вариантам и генам, вносящим вклад в формирование генетической компоненты болезни Альцгеймера и шизофрении. Полученные данные значительно расширяют современные

представления об изменчивости генетических маркеров, потенциально значимых для развития этих заболеваний. Результаты репликативного анализа позволили уточнить спектр информативных генетических маркеров для оценки риска развития этих заболеваний. Полученные при выполнении диссертационной работы данные могут быть использованы в эволюционной, популяционной и медицинской генетике для анализа структуры генофондов мирового народонаселения. Разработанный в исследовании мультиплексный протокол генотипирования генетических маркеров может быть использован в дальнейших экспериментальных исследованиях мультифакторных заболеваний человека и популяционно-генетических исследованиях. Материалы работы могут быть внедрены в научно-образовательный процесс при обучении студентов медицинского и биологического профиля.

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, соответствуют поставленным задачам, являются аргументированными и в полном объеме представляют полученные в работе результаты. Автореферат отражает суть диссертационной работы, содержит положения, выносимые на защиту, основные результаты исследования, выводы. 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.

Таким образом, диссертация Бочаровой А.В. представляет собой масштабную работу, научно-теоретическая и практическая значимость которой не вызывает сомнений. Достоверность результатов проведенного исследования обеспечивается достаточным объёмом исследуемых выборок, использованием современных молекулярно-генетических методов и статистических алгоритмов обработки полученных данных.

Замечания и вопросы. Я не имею принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы Бочаровой А.В., которая в целом оставляет очень хорошее впечатление. Опечатки, отсутствие необходимых запятых, незначительные стилистические погрешности встречаются относительно

редко при таком объеме текста работы (283 страницы). Полагаю, что такой нестандартно большой для кандидатской диссертации объем текста работы обусловлен стремлением автора детально изложить все аспекты проведенного исследования. Тем не менее, полагаю, что информацию, представленную в подразделе «Основные результаты, полученные в ходе диссертационного исследования» (9 страниц) в конце главы «Результаты и обсуждение» можно было бы совместить с информацией, представленной в разделе «Заключение» (6 страниц). Кроме того, возможно, автору следовало бы несколько ограничить число используемых литературных источников (567 работ), выбрав из них наиболее близкие к конкретной теме исследований.

При ознакомлении с работой у меня возникли вопросы, связанные с методической экспериментальной частью исследования:

- 1) Генотипирование SNPs осуществлялось методом масс-спектрометрии MALDI-TOF и методом RT-PCR. Проводилась ли верификация обнаруженных аллельных вариантов SNP с помощью секвенирования по Сэнгеру? Использовались ли образцы с известными SNP-генотипами в качестве контролей или в этом не было необходимости при используемых методах?
- 2) Чем обусловлен выбор именно этих 45 SNPs для анализа (30 - методом масс-спектрометрии MALDI-TOF и 15 - методом RT-PCR) из 93 маркеров, ассоциированных с ШЗ, БА и когнитивными ЭФ этих заболеваний по данным опубликованных полногеномных ассоциативных исследований? Это обусловлено какими-то техническими сложностями и ограничениями, связанными с используемыми методами?

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, выполненной на высоком методическом уровне с применением современных молекулярно-генетических и аналитических методов. Результаты работы имеют теоретическую и практическую значимость и вносят существенный вклад в характеристику генофонда

населения Северной Евразии и понимание роли генетических маркеров, ассоциированных с шизофренией и болезнью Альцгеймера.

Таким образом, я считаю, что диссертационная работа Бочаровой А.В. 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, и ее автор, Бочарова Анна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент Посух Посух Ольга Леонидовна

кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной генетики человека
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения
Российской академии наук»
630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10
(383) 363-49-63 (3413)
posukh@bionet.nsc.ru

« 25 » января 2021 г.

Подпись: О. Л. Посух заверено
Ученый секретарь ИГиГ СО РАН к.б.н.
Бочарова А.В.

