

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Королёвой Юлии Александровны на тему «Метилирование генов микроРНК и
их регуляторных элементов при атеросклерозе сонных артерий»,
представленную к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских
наук
по специальности 1.5.7 Генетика (медицинские науки)**

Актуальность темы исследования

Атеросклероз представляет собой хроническое прогрессирующее заболевание артерий, на поздних стадиях которого может происходить разрыв или эрозия атеросклеротических бляшек, что в итоге вызывает серьёзные осложнения в виде острых сосудистых катастроф. Показано, что на всех стадиях атеросклероза играют роль микроРНК, экспрессия которых подвергается регуляции эпигенетическими механизмами, включая метилирование ДНК в промоторах и энхансерах генов микроРНК.

В последнее время достаточно большое внимание уделяется изучению эпигенетических механизмов регуляции активности генов при сердечно-сосудистых заболеваниях, включая атеросклероз. Проведение подобных исследований позволит описать новые патогенетические механизмы развития атеросклероза и его осложнений, а также открыть пути для создания новых методов профилактики и лечения острых сосудистых событий. В то же время, исследования метилирования ДНК в регуляторных элементах генов микроРНК немногочисленны, а анализ уровня метилирования регуляторных элементов генов микроРНК при атеросклеротическом поражении сонных артерий практически не проводился.

В связи с этим, цель данного исследования - характеристика метилирования в генах микроРНК и их регуляторных элементах при формировании и нестабильном течении клинически выраженного атеросклероза сонных артерий является

несомненно актуальной.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций,
сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Диссертационное исследование Королёвой Ю.А. проведено на высоком методическом уровне. В работе автор поставил конкретную цель и сформулировал адекватные ей задачи, для решения которых использован целый спектр молекулярно-генетических методов исследования (высокопроизводительного массового параллельного секвенирования ДНК, метилочипов Illumina, секвенирования микроРНК), а также привлечены данные из открытых источников и баз (FANTOM5, TRmir, TAM 2.0, PlaqView и др.).

В работе был проведён тщательный биоинформатический и статистический анализ с использованием релевантных методов биоинформатики и математической статистики при соблюдении необходимых требований к условиям их применения.

Результаты работы, а также сформулированные положения и выводы, объективно обоснованы и достоверны.

Научная новизна исследования

В работе получены новые данные о вариабельности и тканеспецифичности метилирования регуляторных элементов и «тел» генов *MIR10B*, *MIR21*, *MIR100*, *MIR127* и *MIR143* в сосудах и лейкоцитах крови при осложненном течении атеросклероза сонных артерий. Выявлена ассоциация нестабильного течения атеросклеротического поражения сонных артерий с преимущественным гипометилированием генов микроРНК и их регуляторных элементов в клетках сонных артерий. Обнаружены предполагаемые молекулярные пути и регуляторные оси, в которых участвуют микроРНК и их белки-мишени. Полученные в ходе выполнения настоящего исследования новые знания расширяют представление о вариабельности метилирования ДНК при атеросклерозе, а также его связи с экспрессией микроРНК в клетках атеросклеротических бляшек. Выявленные разнонаправленные корреляции между метилированием регуляторных регионов

генов микроРНК, экспрессией микроРНК и гистологически / клинически значимыми признаками развития и осложненного течения атеросклероза дают предпосылки для дополнительных исследований с целью поиска биомаркеров развития острых сосудистых событий.

Значимость выводов и рекомендаций, полученных в диссертации, для науки и практики

Диссертационное исследование Королёвой Ю.А. имеет фундаментальную и практическую значимость. Полученные в результате выполнения настоящей работы новые знания расширяют представления о связи изменения уровня метилирования генов микроРНК и их регуляторных элементов с вариабельностью экспрессии этих микроРНК при формировании и нестабильном течении атеросклероза. Выявленные ассоциации уровня метилирования ДНК в области регуляторных элементов и «тел» генов *MIR10B*, *MIR21*, *MIR143* и *MIR127* в атеросклеротической бляшке с отдельными параметрами гистологической нестабильности, а в лейкоцитах периферической крови пациентов – с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий и его патогенетически значимыми признаками представляют интерес для дальнейшего изучения в качестве потенциальных биомаркеров для диагностики и прогнозирования течения атеросклероза сонных артерий. Вариабельность уровня метилирования регуляторного элемента гена *MIR100* в клетках атеросклеротических бляшек в зависимости от наличия у пациента с атеросклерозом сонных артерий метаболического синдрома подчеркивает важность рассмотрения коморбидных состояний на эпигенетическом уровне и необходимость их учета при выявлении потенциальных биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний.

Результаты, полученные в работе, могут использоваться в образовательном процессе при подготовке студентов, клинических ординаторов, аспирантов медицинских и биологических вузов, слушателей повышения квалификации по специальностям «генетика» и «лабораторная генетика», а также врачей и специалистов в области кардиологии.

Структура и содержание диссертационной работы

Полный объём диссертационной работы Королёвой Ю.А. составляет 203 страницы компьютерной верстки, включая 46 рисунков и 12 таблиц. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и 5 приложений. Библиография включает 278 источников. Диссертация хорошо структурирована, изложена ясно, без повторов и отклонений от темы.

В разделе «Введение» описаны актуальность и степень научной разработанности темы исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены цель и задачи работы. Изложена методологическая основа исследования и положения, выносимые на защиту, отображено личное участие автора, приведена информация о публикациях.

В главе «Обзор литературы» описаны современные представления о патогенезе атеросклероза и его осложнений, связь эпигенетических механизмов регуляции (метилирование ДНК и экспрессия микроРНК) с нестабильным течением атеросклероза.

В главе «Материал и методы исследования» приведены дизайн исследования и подробная характеристика пациентов. В данной главе также подробно описаны использованные в работе молекулярно-генетические, биоинформатические и статистические методы.

Глава «Результаты и обсуждение» включает три раздела. В первом разделе охарактеризован уровень метилирования регуляторных элементов отдельных генов микроРНК в атеросклеротических бляшках сонных артерий, интактных сосудах и лейкоцитах крови. Проведена оценка вклада различных клеточных компонент в профиль экспрессии микроРНК методом деконволюции ткани. Описана вариабельность и тканеспецифичность метилирования регуляторных элементов генов микроРНК *MIR10B*, *MIR21*, *MIR100*, *MIR127* и *MIR143* и «тел» генов *MIR21* и

MIR143.

Во втором разделе охарактеризован профиль метилирования широкого спектра генов микроРНК в атеросклеротических бляшках сонных артерий в зависимости от степени нестабильности последних.

В третьем разделе описываются корреляции уровня метилирования CpG-сайтов генов микроРНК, определённых на предыдущих этапах исследования, с экспрессией соответствующих микроРНК. Рассмотрены белки-мишени микроРНК, для которых установлена наиболее выраженная (как прямая, так и обратная) корреляция между метилированием CpG-сайтов генов и экспрессией.

Значительный интерес в работе представляют новые данные об эпигенетических изменениях, происходящих в атеросклеротической бляшке, и их взаимосвязи. В диссертационной работе анализируются различные уровни молекулярной информации (ДНК, зрелые микроРНК, белки-мишени микроРНК), что позволяет говорить о ней как о мультиомиксном исследовании.

Все полученные автором результаты диссертации представлены в таблицах и иллюстрациях, полноценно описаны и обсуждены.

В «Заключении» автор в краткой форме подводит итог всех исследований и резюмирует ключевые положения диссертационной работы. Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и соответствуют поставленным целям и задачам.

Сведения о полноте опубликованных научных работ

По теме исследования опубликовано в соавторстве 34 научные работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных для публикации основных результатов кандидатских и докторских диссертаций, 4 статьи – в периодических научных журналах и 23 публикации представляют собой статьи в сборниках и тезисы конференций. Из общего числа статей 8 опубликованы в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и/или Scopus.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Королёвой Юлии Александровны полностью соответствует основным положениям диссертации. В автореферате отражены актуальность исследования, степень разработанности темы, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, основные положения, выносимые на защиту, полученные результаты; приведены обобщающее заключение и выводы.

Общие вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний к материалам, изложенным в диссертации и в автореферате нет. Однако имеются два вопроса:

1. В работе проанализировано метилирование локусов, кодирующих микроРНК и их регуляторных элементов при атеросклерозе. Описаны ли ранее ассоциации генетических вариантов исследованных локусов с атеросклерозом и его осложнениями или его факторами риска?
2. Как автор видит дальнейшее развитие исследований в данной области?

Вопросы носят исключительно дискуссионный характер и не снижают научно-практическую ценность диссертационной работы Королёвой Ю. А.

Заключение

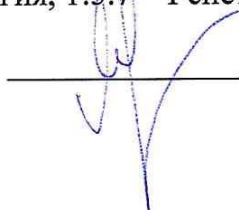
Диссертация Королёвой Юлии Александровны на тему «Метилирование генов микроРНК и их регуляторных элементов при атеросклерозе сонных артерий» является завершённой и самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача по выявлению особенностей метилирования ДНК в генах микроРНК при формировании и нестабильном течении клинически выраженного атеросклероза сонных артерий, что имеет существенное значение для расширения имеющихся знаний о поздних стадиях атеросклеротического поражения сосудов, сопряженных с риском клинических

осложнений у человека.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации РФ №842 от 24.09.2013 г. (в ред. от 25.01.2024 г.) предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Королёва Юлия Александровна заслуживает присвоения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Официальный оппонент:

руководитель Института персонализированной терапии и профилактики Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (специальность 3.1.20 — Кардиология, 1.5.7 – Генетика)



Мешков Алексей Николаевич

16.12.2024 г.

Подпись Мешкова А.Н. заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат медицинских наук,



Поддубская Елена Александровна

Мешков Алексей Николаевич

Адрес места работы: 101000, Петроверигский пер., 10, стр. 3, Москва Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Должность: руководитель Института персонализированной терапии и профилактики

Телефон организации: +7 (495) 212-07-13

Сайт организации: gnicpm.ru

E-mail оппонента: meshkov@lipidclinic.ru