

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Тел./факс +7 (812) 702-37-30

e-mail: fmrc@almazovcentre.ru

ОГРН 1037804031011 ИНН 7802030429 КПП 781401001

12.12.2024 № 12-05-13981/24
на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора по
научной работе федерального
государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский
исследовательский центр имени В.А.
Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук,
профессор академии РАН

А.О. Конради

« 12 » декабря 2024 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертации Королёвой Юлии Александровны на тему «Метилирование генов микроРНК и их регуляторных элементов при атеросклерозе сонных артерий», представленной на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Актуальность темы выполненной работы

Атеросклероз сонных артерий является одной из ведущих причин острых сосудистых катастроф, таких как ишемический инсульт, которые лежат в основе наиболее частых причин смертности и инвалидности в мире. Исследование эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов и фенотипа клеток, в том числе, метилирования ДНК и влияния регуляторных микроРНК представляет важный шаг в углублении понимания патогенеза данной патологии.

Изучение метилирования регуляторных элементов генов микроРНК при нестабильности атеросклеротических бляшек сонных артерий, а также оценка их связи с клеточным составом и клиническими признаками атеросклероза, актуально и значимо как для фундаментальной науки, так и для разработки новых подходов к персонализированной диагностике и лечению.

Поскольку метилирование ДНК в регуляторных элементах генов микроРНК и экспрессия микроРНК взаимно дополняют друг друга и обеспечивают функционирование обратной связи, их анализ при нестабильности атеросклеротических бляшек представляется актуальным и может позволить обнаружить новые патогенетически значимые механизмы развития осложнений атеросклероза.

Научная новизна работы

В работе получены новые данные о вариабельности и тканеспецифичности метилирования регуляторных регионов генов микроРНК (*MIR10B*, *MIR21*, *MIR100*, *MIR127*, *MIR143*) в сосудах и лейкоцитах крови при осложненном течении атеросклероза сонных артерий. Выявлены дифференциально метилированные CpG-сайты, связанные с клинической и гистологической нестабильностью атеросклеротических бляшек сонных артерий. 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 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

Получены данные о связи изменения уровня метилирования генов микроРНК и их регуляторных элементов с вариабельностью экспрессии этих микроРНК при формировании и нестабильном течении атеросклероза. В частности, в работе выявлена неоднозначная связь уровня метилирования генов и экспрессии микроРНК в клетках атеросклеротической бляшки. Идентифицированы *cis-miReQTM*s, которые в промоторах генов микроРНК отрицательно коррелируют с экспрессией зрелых микроРНК. Однако метилирование CpG-сайтов в области «тела» гена-хозяина микроРНК, наоборот, положительно коррелирует с их экспрессией в клетках атеросклеротических бляшек сонных артерий.

Сформированные в результате исследования списки дифференциально метилированных CpG-сайтов между атеросклеротическими бляшками и интактными сонными артериями представляют интерес для дальнейшего изучения и выявления потенциальных мишеней для диагностики и прогноза течения атеросклероза сонных артерий. Полученные данные о предполагаемых молекулярных путях и регуляторных осях, в которых участвуют микроРНК и их мишени, могут быть использованы в целях поиска новых мишеней для таргетной терапии атеросклероза.

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

Работа основана на применении таргетного бисульфитного секвенирования,

секвенирования микроРНК и анализа метилирования на микрочипах; использован широкий спектр методов биоинформатического и статистического анализа данных. Достоверность результатов обеспечивается объёмом выборки, корректным статистическим анализом и верификацией с использованием внешних данных из открытых источников и баз.

Методы, использованные в исследовании, соответствуют уровню современной генетики и позволяют сопоставлять полученные результаты с данными других исследовательских групп. Полученные результаты соответствуют поставленной цели и представлены в полном объёме. Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы.

По теме диссертационного исследования опубликовано 34 научные работы, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных для публикации основных результатов кандидатских и докторских диссертаций, в том числе из них 2 работы в периодических научных журналах, индексируемых в Scopus. Результаты работы неоднократно докладывались на российских и международных конференциях, что подтверждает их признание научным сообществом.

Структура работы

Диссертационная работа Королёвой Ю.А. изложена на 203 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц и 46 рисунков. Работа построена по традиционному плану и включает введение, основные главы (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и обсуждение), заключение, выводы и 5 приложений. Список литературы включает 278 источников, из них 19 отечественных и 259 иностранных, а также 12 интернет-ресурсов.

В разделе «**Введение**» автор излагает основные положения, обосновывающие актуальность диссертационного исследования и степень научной разработанности темы, формулирует цель и задачи работы, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования. В разделе представлены методология исследования и ключевые положения, выносимые на защиту, отображен личный вклад автора, приведена информация о публикациях.

Глава «**Обзор литературы**» включает в себя четыре подглавы и заключение. В первой подглаве дано определение атеросклероза и осложнений этого состояния — ишемического инсульта, транзиторной ишемической атаки, дисциркуляторной энцефалопатии, описан патогенез атеросклероза на молекулярном уровне. Во второй подглаве подробно изложены современные представления о стабильном и нестабильном состоянии атеросклеротической бляшки, приведены клинические, морфологические и биохимические маркеры нестабильности. Третья подглава содержит определение

микроРНК и анализ изменения их экспрессии при нестабильном течении атеросклероза. В четвёртой подглаве дана характеристика метилирования регуляторных элементов генов микроРНК при атеросклерозе артерий различной локализации.

В главе «**Материалы и методы исследования**» описаны дизайн исследования, характеристика выборок пациентов, гистологическое исследование атеросклеротических бляшек сонных артерий, молекулярно-генетические и биоинформатические методы исследования для анализа метилирования ДНК и экспрессии микроРНК, статистический анализ данных. Описание методов выполнено в полном объеме и является достаточным для понимания обоснованности их выбора в соответствии с выполняемыми задачами.

В главе «**Результаты и обсуждение**» представлены результаты и их последовательное обсуждение, которые разделены на три подглавы в соответствии с дизайном исследования. Конкретно: проанализирован уровень метилирования генов и/или регуляторных элементов микроРНК *MIR10B*, *MIR21*, *MIR100*, *MIR127*, *MIR143* в атеросклеротических бляшках и периферической крови, выявлены дифференциально метилированные CpG-сайты, ассоциированные с нестабильностью атеросклеротических бляшек и клиническими признаками заболевания, установлены корреляции метилирования CpG-сайтов генов микроРНК и их экспрессии данных молекул в атеросклеротических бляшках сонных артерий. Все полученные автором результаты диссертационного исследования представлены в таблицах и иллюстрациях, полноценно описаны и обсуждены в соответствии с уже имеющимися представлениями об исследуемых процессах и механизмах.

В «**Заключении**» подведены итоги исследования, проанализированы точки соприкосновения с результатами других научных коллективов, подчеркнуты особенности и достоинства выполненной работы.

«**Выводы**» отражают основные результаты диссертационного исследования и полностью соответствуют поставленным задачам.

Автореферат соответствует содержанию диссертации и отражает основные этапы работы, результаты и выводы. Полученные результаты наглядно оформлены в виде графиков и таблиц.

Рекомендации по применению результатов диссертации

Полученные результаты дополняют существующие представления о молекулярных механизмах развития нестабильности атеросклеротической бляшки, а также выявляют новые гены, сигнальные и метаболические пути для установления потенциальных биомаркеров прогноза и диагностики осложненного течения данной патологии, а также

поиска новых мишеней для таргетной терапии атеросклероза. В исследовании представлены методы и подходы, которые могут найти применение при планировании и реализации других исследований. В частности, собранная коллекция биологического материала тканей сосудов и клеток крови пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий может быть использована для проведения дальнейших исследований в области генетики сердечно-сосудистых заболеваний.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний к работе нет. В формате дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

Как можно объяснить обнаруженную положительную корреляцию между метилированием CpG- сайтов, находящихся в «теле» гена, и уровнем экспрессии соответствующей микроРНК?

Какие еще механизмы регуляции экспрессии генов микроРНК перспективно исследовать для оценки их влияния на уровни экспрессии микроРНК интереса у исследуемых групп пациентов?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Королёвой Юлии Александровны на тему «Метилирование генов микроРНК и их регуляторных элементов при атеросклерозе сонных артерий» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, имеющей значение для медицинской генетики, по анализу связи изменения уровня метилирования генов микроРНК и их регуляторных элементов с вариабельностью экспрессии этих микроРНК при формировании и нестабильном течении клинически выраженного атеросклеротического процесса.

По своей актуальности, научной новизне, практической ценности полученных результатов, методическому уровню и объёму проведенных исследований представленная диссертационная работа полностью соответствует критериям, установленным пунктом 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 25.01.2024 г.), предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор - Королёва Юлия Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 Генетика (медицинские науки).

Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Королёвой Юлии Александровны на тему «Метилирование генов микроРНК и их регуляторных элементов

при атеросклерозе сонных артерий» рассмотрен, обсужден и одобрен на семинаре Научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, протокол № 1/2024 от 11.11.2024г.

Научный сотрудник
Научно-исследовательской лаборатории
молекулярной кардиологии и генетики
Института молекулярной биологии и генетики
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России
кандидат биологических наук

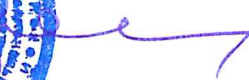
Петрова Татьяна Александровна

Директор
Института молекулярной биологии и генетики
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России
доктор медицинских наук

Костарева Анна Александровна

Подпись доктора медицинских наук Костаревой Анны Александровны и кандидата биологических наук Петровой Татьяны Александровны заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор



Недошивин Александр Олегович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

тел: 8 (812) 702-37-77

e-mail: fmrc@almazovcentre.ru