

## ОТЗЫВ

на диссертацию Титова Бориса Васильевича

«Полиморфизм генов, белковые продукты которых играют роль в развитии воспаления при ишемическом инсульте»,

представленную к защите на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук

по специальности 03.01.04 «Биохимия»

**Актуальность темы исследования.** Логичным продолжением расшифровки генома человека и идентификации генов, мутации которых приводят к наследственным заболеваниям, явился поиск генов и генных сетей, нарушение функции которых является причиной наследственной предрасположенности к возникновению многих частых, социально значимых мультифакторных болезней. Ишемический инсульт (ИИ) является одной из наиболее частых причин преждевременной смерти. Изучение патогенетических механизмов его возникновения, анализ факторов, потенцирующих его развитие, выяснение вклада наследственной предрасположенности к этому грозному заболеванию является одной из актуальных проблем современной медицины, что делает избранную Б.В. Титовым тему диссертационной работы очень актуальной.

**Научная новизна полученных результатов.** В работе впервые проведен анализ генетической предрасположенности к ИИ у этнических русских, включающий поиск ассоциации с заболеванием аллелей 11 полиморфных участков 8 генов-кандидатов, белковые продукты которых участвуют в развитии воспаления. Показана значимая ассоциация с развитием ИИ аллелей или генотипов полиморфных участков генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI*, а также ряда би- и триаллельных сочетаний, включающих эти и другие исследованные гены.

**Практическая значимость.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о важной роли воспаления при ИИ и позволяют расширить представления о биохимических механизмах, лежащих в его основе. Выявленные отдельные аллели/генотипы и их сочетания, ассоциированные с ИИ, в дальнейшем могут послужить маркерами для определения индивидуального риска развития ИИ.

**Структура диссертации.** Диссертация Б.В.Титова написана по традиционному плану, включает «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы», изложена на 160 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 рисунками и 19 таблицами.

Во **Введении** кратко обосновывается очевидная актуальность темы, рассмотрены существующие представления о наследственной предрасположенности к ИИ, основных механизмах и причинах этого заболевания. Формулируются цели и задачи исследования, приводятся научная новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость, отмечается личный вклад автора, в выполнение работы, который не вызывает сомнения. Принципиальных замечаний у рецензента нет. Считаю, однако, малоудачным **название диссертации**, в которой проведен сравнительный анализ особенностей полиморфизма противовоспалительных генов у больных с ИИ в сравнении с таковым у здоровых с целью выяснения наличия ассоциаций соответствующих аллелей с ИИ, а не просто изучен « полиморфизм генов». Считаю неудачными выражения «аллели или генотипы генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFB1* входят в состав ассоциированных с **ИИ сочетаний, объединяясь как друг с другом, так и с аллелями других генов**» (стр. 9), а также «представляют собой **составные генетические маркеры ИИ** как полигенного заболевания».

**Глава 1 (Обзор литературы)** изложена на 43 стр. В ней подробно (иногда излишне детально) рассмотрены этиопатогенез ИИ, факторы, модифицирующие и немодифицирующие развития ИИ, наследственные причины предрасположенности, включающие как моногенные, так и полигенные формы болезни, экспериментальные модели ИИ; исследования, посвященные поиску генов, ассоциированных с ИИ, включая методы сцепления, позиционное и функциональное картирование, а также метод полногеномного анализа ассоциаций (GWAS), рассмотрены основные функциональные группы генов (генные сети) липидного обмена, продукции оксида азота, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, обмена фолиевой кислоты, системы свертывания крови. Специальный раздел посвящен генам воспаления, составившим основной объект настоящего исследования.

Знакомство с обзором литературы оставляет самое благоприятное впечатление, не оставляет сомнения в глубоком знании соискателем существа проблемы и путей её решения. Очень удачно, информативно и компактно написано заключение к столь пространному литературному обзору. Принципиальных замечаний у рецензента нет. Вместе с тем, считаю, что **обзор слишком велик по объему, перегружен многими факторами и деталями, не имеющими прямого отношения к сути работы. Неясно,**

почему в число моногенных заболеваний, приводящих к ИИ попали семейные кардиомиопатии (табл. 1); непонятно, почему при исследовании методом "случай-контроль" акцент на промежуточных фенотипах «позволяет в значительной степени избежать недостатков при формировании контрольной группы» (стр.22); мета-анализ – это собственно не метод «выявления генетических детерминант комплексных заболеваний» как отмечено автором, а, скорее, способ проверки ассоциаций, установленных разными методами( стр. 40)

Глава 2 (Материалы и методы) занимает 16 страниц. Работа выполнена на 200 больных ИИ и 146 индивидуумах контрольной группы русской этнической принадлежности. Молекулярно-генетическими методами (различные варианты ПЦР) изучены особенности аллельного полиморфизма 11 сайтов 8 генов воспалительной системы. Почти 20 страниц обзора отведено подробному описанию изученных полиморфных сайтов, молекулярным и функциональным характеристикам соответствующих аллелей, каждый из которых приведен на соответствующих электрофореграммах. Значимость связи с заболеванием носительства сочетаний аллелей/генотипов («генетических ансамблей»), содержащих n аллелей и/или генотипов, доказывается с помощью достаточно редко применяемого в подобных исследованиях ПО APSampler, использующего метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику. Однако, насколько можно судить по материалам основной, 3-й главы диссертации, примененный соискателем статистический метод вполне адекватен для объективной оценки полученных результатов, особенно при анализе сложных ассоциаций нескольких генов-кандидатов. Принципиальных замечаний у рецензента нет.

Глава 3 (Результаты и обсуждение) изложена на 35 страницах и включает подробный анализ ассоциации с ИИ полиморфизма как отдельных генов системы воспаления, так и их сочетаний. Так, установлено, что наиболее значимый вклад в развитие ИИ у этнических русских вносят гены *IL6*, *PDE4D* и *TGFBI*, продукты которых участвуют в формировании патогенетических механизмов на стадиях, предшествующих ишемии (1); установлены сочетания из 2х и 3х аллелей, обладающие выраженным предрасполагающим или протективным действием в отношении развития заболевания (2). Эти результаты свидетельствуют о повышении мощности исследования при использовании комплексного подхода, основанного на анализе сочетаний генов (3). Так, сочетания аллеля *PDE4D\*87C* с генотипом *TGFBI\*–509T/T* увеличивает риск развития ИИ более, чем в 4 раза, а в возрасте  $\leq 60$  лет – более, чем в 9 раз (4). Выявлены также составные генетические маркеры ИИ, представляющие собой «генетические ансамбли» –

сочетания 2 или 3 аллелей генов *IL6*, *PDE4D* и *TGFB1*, между собой или с аллелями генов *IFNG*, *LTA*, *CTLA4*, *IL4* и *TNF*, существенно влияющих на предрасположенность к ИИ(5). Высоко оценивая научную значимость полученных результатов, хотелось бы спросить у соискателя, *могут ли представленные данные найти реальное практическое применение уже сегодня при формировании групп повышенного риска ИИ еще в досимптоматический период развития заболевания?* Принципиальных замечаний у рецензента нет.

Вместе с тем, следовало бы обратить внимание соискателя на ряд неточностей и неудачных выражений:

Стр.6 « аллели, влияющие на уровень белковых продуктов»

Стр.7 «респонсивными элементами промоторных областей всех трех генов»

Стр. 11 «большое количество исследований»

Неясно, что такое «гиперинтенсивные очаги в белом веществе » (стр.21)

Стр.78 «разбиение больных на группы»

Стр.72 –« лица, получившие ИИ в возрасте...»

Стр.126 «подгруппы, сформированные по *половому и гендерному* признакам».

Результаты диссертационной работы Титова Бориса Васильевича суммированы в 7 выводах, которые полностью и объективно отражают результаты проведенного исследования. Материалы диссертации неоднократно докладывались на научных конференциях, представлены в 5 публикациях, входящих список ВАК. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

### **Заключение**

Научная новизна полученных результатов, их большая научная и практическая значимость очевидны. Проведенный анализ позволил существенно расширить существующие представления о вкладе аллельного полиморфизма генов системы воспаления в этиологию ИИ. Оценивая результаты работы в целом, следует отметить высокий уровень дизайна эксперимента, актуальность и практическую ценность выполненной автором работы.

Диссертация Титова Б. В. является законченной научно-квалификационной работой, представляющей несомненный теоретический и практический интерес, в которой решена научная задача, имеющая существенное значение для понимания биохимических механизмов, лежащих в основе этиологии и патогенеза ишемического инсульта. Все данные получены автором впервые. Экспериментальная часть и обсуждение логичны и убедительны, результаты хорошо иллюстрированы, их достоверность не вызывает сомнения.

Диссертационная работа Титова Бориса Васильевича «Полиморфизм генов, белковые продукты которых играют роль в развитии воспаления при ишемическом инсульте», полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Высшей Аттестационной Комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации, утвержденных Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года, а Титов Б. В. заслуживает присуждения ему искомой ученой степени по специальности 03.01.04 - «биохимия».

Зав. лабораторией пренатальной диагностики

Член –корр. РАН, профессор, д.м.н.

Подпись В.С.Баранова заверяю

Ученый секретарь



В.С.Баранов

д.м.н. И.Ю.Коган

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук

199034, г.Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3, E-mail: [iagmail@ott.ru](mailto:iagmail@ott.ru),