



Министерство здравоохранения Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования

«Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)

Адрес: Санкт-Петербург, 191015, ул. Кирочная, д.41

ОКПО 30625447, ОКАТО 40298564000, ОГРН 1117847434990, ИНН
7842461679, КПП 784201001, ОКВЭД 85.22; 86; 72.19; 84.21

Единая телефонная справочная: (812) 303-50-00, факс: (812) 303-50-35,

e-mail: rectorat@szgmu.ru

www.szgmu.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по науке и инновационной
деятельности федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Северо-Западный
государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент

Н.В. Бакулина



3 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Ялаева Булата Илдусовича на тему: «Исследование генетических и эпигенетических факторов остеопороза», представленной к официальной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Ялаева Б.И. направлена на исследование молекулярно-генетических основ остеопороза у женщин постменопаузального возраста и мужчин старше 45 лет из Волго-Уральского региона России. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения остеопорозу подвержены более 200 млн. человек и данный показатель не снижается в течение последних десятилетий, несмотря на внедрение методов диагностики, в том числе

калькуляторов расчёта 10-летней вероятности перелома (FRAX и др.), так как остеопороз, как правило, диагностируется только после перелома. Кроме того, существование генетически обусловленной индивидуальной чувствительности к одним из наиболее часто применяемым с настоящее время препаратам – аминобисфосфонатам может оказывать влияние на эффективность терапии заболевания. При этом, с точки зрения фундаментальных подходов интерес представляет исследование первичного остеопороза – формы заболевания, которое развивается на фоне неблагоприятного наследственного фактора при воздействии факторов окружающей среды. Новейшие данные говорят о высокой вовлечённости аберрации эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов в патогенез остеопороза и изменение профиля метилирования ряда ключевых генов костного ремоделирования и полиморфизма сайтов связывания микроРНК в мРНК целевых генов, что может иметь большое значение при формировании переломов и низкого уровня минеральной плотности костной ткани. Большую проблему на сегодня представляет широкое внедрение ДНК-диагностики для определения индивидуальной чувствительности к антирезорбтивной терапии, так как известные маркеры не воспроизведены в российских популяциях. Важной проблемой является бионформатическая обработка накопленных данных. В диссертационной работе Ялаева Б.И. осуществлён поиск генетических, эпигенетических и фармакогенетических маркеров остеопороза у женщин и мужчин из Волго- Уральского региона с учётом этнических факторов. Полученные данные представляют большую ценность для фундаментальной и практической медицины, что делает диссертационную работу Ялаева Б.И. актуальной и отвечающим запросам современной науки.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе Ялаева Б.И. проведено комплексное исследование генетических, эпигенетических и фармакогенетических маркеров остеопороза на репрезентативной выборке женщин и мужчин из Волго-Уральского региона России. Обнаружены генетические маркеры переломов костей разной локализации у женщин с низким уровнем минеральной плотности костной ткани позвоночника, а также у женщин и мужчин в гене остеопротегерина. С учётом этнического происхождения в полиморфных локусах сайтов связывания микроРНК, а также генов микроРНК установлены маркеры переломов и низкого уровня минеральной плотности костной ткани в целом и отдельных локализаций у мужчин и женщин. Проведён анализ полиморфных вариантов генов

чувствительности к антирезорбтивной терапии, установлены закономерности повышения уровня витамина Д в зависимости от полиморфного варианта гена фарнезил-дифосфат синтазы. Автором применён метод полигенной оценки риска развития остеопороза в популяции женщин из Волго-Уральского региона. Основываясь на данных репликации полногеномного анализа ассоциации и результатов исследования генов-кандидатов, разработаны клинико-генетические прогностические модели переломов костей и низкого уровня минеральной плотности костной ткани у женщин и мужчин с учётом этнического происхождения. Обнаружено, что пониженный уровень метилирования промоторного региона гена *RUNX2* является эпигенетическим маркером риска остеопороза у женщин постменопаузального возраста.

Значимость полученных результатов для медицинской науки и практики

Результаты диссертационной работы Ялаева Б.И. представляют значимый интерес для медицинских генетиков и врачей разных специальностей: травматологов, ортопедов, ревматологов, геронтологов, эндокринологов и др. Исследовано влияние 116 полиморфных вариантов репликации GWAS и 20-полиморфных вариантов генов-кандидатов на риск развития остеопороза у мужчин и женщин, 4 полиморфных варианта генов-кандидатов на индивидуальную чувствительность к терапии остеопороза и 4 гена профиля метилирования, связанных с риском развития данной патологии у женщин. Результаты исследования могут быть применены для разработки способов ДНК-диагностики риска развития остеопороза с учётом специфики генофонда Волго-Уральского региона России и новых методов персонализированной терапии. Полученные результаты анализа эпигенетического профиля статуса метилирования ДНК у женщин с остеопорозом вносят значительный вклад в понимание механизмов молекулярного патогенеза данного заболевания. Результаты исследования позволяют расширить теоретический резерв материалов обучения при подготовке специалистов медико-биологического профиля в высших учебных и последипломном образовании врачей разных специальностей.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа выполнена на высоком методическом уровне, использованы современные методы молекулярно-генетического и статистического анализа, включая пиросеквенирование и полигенную оценку риска. Степень достоверности и воспроизводимости полученных результатов не вызывает

сомнения. Все положения, выносимые на защиту, отражают основные результаты диссертации. Доказательная база приведена в соответствии с полученными эмпирическими показателями с использованием соответствующих критериев параметрического и непараметрического анализа. Дизайн исследования, включающий 4 основных направления: поиск генетических, эпигенетических и фармакогенетических маркеров и полигенную оценку риска, выполнены с использованием соответствующих научно-методических подходов на репрезентативной выборке. Для выявления молекулярно-генетических маркеров остеопороза соискателем применен как целостный, так и органо-специфический подход, который позволил обнаружить статистически значимые ассоциации с переломами и низким уровнем минеральной плотности костной ткани не только для скелета в целом, но и для отдельных локализаций, что отражает комплексный подход к исследованию заболевания. Большинство полученных результатов подкреплено наглядными иллюстрациями и табличными данными. Заключение и выводы в строгой логической последовательности соответствуют поставленным цели и задачам диссертационного исследования.

Результаты апробированы на 11 конференциях, 4 из которых – международные. По теме диссертационного исследования опубликована 21 печатная работа, в числе которых 8 статей в журналах, входящих в перечень ВАК, и 3 статьи – в журналах, индексируемых Scopus и Web of Science.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Ялаева Б.И. могут быть использованы для клинических исследований по внедрению новых подходов персонализированного подхода ранней диагностики остеопороза с использованием пиросеквенирования по анализу метилирования и панелей ДНК-диагностики с последующей системой расчета индивидуального полигенного риска. Результаты могут быть внесены в новые разрабатываемые клинические рекомендации Министерства здравоохранения РФ. Кроме того, накопленные результаты в совокупности с научным заделом по исследованию остеопороза создают значимый вклад в понимание молекулярно-генетических основ патогенеза первичного остеопороза с учетом многонациональной и генетически неоднородной структуры популяции Волго-Уральского региона России, что представляет большую перспективу для развития геномной медицины России.

Содержание диссертационной работы и ее оформление

Диссертационная работа Ялаева Б.И. включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, библиографический список и приложение. Список литературы включает 172 источника, среди них – 10 отечественных и 162 зарубежных. Работа изложена на 277 страницах машинописного текста, содержит 49 рисунков и 83 таблицы.

Во «**Введении**» автор обосновывает актуальность темы диссертации, освещает научный задел в заданном направлении, практическую значимость и научную новизну работы, приводит положения, выносимые на защиту. Несмотря на краткое изложение актуальности темы исследования, в главе «**Обзор литературы**» автором приведены подробные клинико-эпидемиологические данные по распространённости остеопороза, обзор литературы по генетике, эпигенетике и фармакогенетике, которые полностью раскрывают сложности исследования молекулярного патогенеза и современного состояния терапии данного заболевания. В работе содержатся ссылки на 172 источника литературы, среди которых 10 отечественных и 162 зарубежных, при этом более 50 работ, опубликованы в течение последних 5-ти лет.

Глава «**Материалы и методы**» чётко структурирована на подглавы, в которых планомерно описана структура выборки, включающая женщин постменопаузального возраста и мужчин старше 45 лет, методы, использованные для первичной обработки биологического материала по выделению ДНК (фенол-хлороформная экстракция), методы молекулярно-генетического (полимеразная цепная реакция, пиросеквенирование) и статистического анализа (параметрические и непараметрические критерии, полигенная оценка риска), что в совокупности в конце главы резюмируется общим планом дизайна исследования.

Глава «**Результаты и обсуждение**» состоит из чётко структурированных 8 разделов, в которых отдельно описаны результаты сравнительного анализа частот аллелей и генотипов полиморфных локусов в генах остеопротегерина, витамина Д, сайтов связывания микроРНК и генов микроРНК, анализ профиля метилирования ДНК в генах *RANKL*, *SOST*, *COPZ2* и *RUNX2* и анализа полиморфных вариантов генов чувствительности к антирезорбтивной терапии в выборке женщин и мужчин в целом и в зависимости от этнического происхождения. Во всех случаях обнаружены статистически значимые ассоциации, при этом анализ локусов в сайтах связывания микроРНК дополнен поправкой на множественность сравнений, позволившей выявить маркеры высокой значимости. Важной особенностью работы является установление закономерностей относительно выборок русского и татарского происхождения

среди женщин и мужчин, что открывает перспективы для дальнейших поисков этноспецифических маркеров. В работе использованы современные методы биоинформатического анализа и программного обеспечения, например приложения RStudio, базированной на языке программирования R, а также программной среды PLINK, что позволило диссертанту произвести необходимые вычисления больших массивов данных для полигенной оценки риска и поиска ассоциаций с использованием критерия согласия Пирсона. Стоит отметить, что длительность наблюдения за динамикой уровня минеральной плотности костной ткани и витамина Д составляет всего лишь год, однако, автор отмечает, что исследование является пролонгированным и находится в начальной стадии, что делает задачу по поиску фармакогенетических маркеров открытой. Особый интерес представляют разделы по разработке клинико-генетических моделей переломов и низкого уровня минеральной плотности костной ткани, а также использование современного метода анализа – полигенной оценки риска развития заболевания на основе генов-кандидатов и локусов путём полногеномного анализа ассоциаций (GWAS). Такой разносторонний анализ позволил получить несколько моделей с хорошей прогностической значимостью и с высокими показателями чувствительности и специфичности, которые представляют большую научную ценность для развития данного направления в области клинической и фундаментальной медицины.

«**Заключение**» содержит обобщение всех результатов, полученных в рамках диссертационной работы Ялаева Б.И., а также сопоставление наиболее интересных данных с современными достижениями в области молекулярно-генетических исследований остеопороза.

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

Работа в целом производит благоприятное впечатление, текст написан научным языком, результаты логично и последовательно приведены в полном объеме в отдельных разделах и имеют значимую научную ценность.

Внедрение основных результатов исследования и конкретные рекомендации по дальнейшему использованию диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Ялаева Б.И. востребованы в области геномной медицины и представляют существенную ценность для составления проектов клинических рекомендаций по диагностике первичного остеопороза у мужчин и женщин. Данные по частотам исследованных полиморфных локусов вносят большой вклад в познание молекулярного патогенеза заболевания, а

разработанные модели с высокой прогностической значимостью могут использоваться в качестве ДНК-маркеров для диагностики переломов и низкого уровня минеральной плотности костной ткани шейки бедра, поясничного отдела позвоночника и лучевой кости в отдельности и в коморбидном состоянии.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В ходе анализа диссертационной работы возникли некоторые вопросы уточняющего характера:

1. Полигенная оценка риска предполагает, что все полиморфные варианты, которые включены в анализ, являются рисковыми, однако, регрессионный анализ показывает, что только некоторые локусы проходят границу статистически значимой ассоциации. Каким образом формируется индивидуальный риск на основе данных полигенной шкалы?
2. В работе проводится два вида анализа с целью выявления прогностических моделей для оценки риска развития переломов и низкого уровня минеральной плотности костной ткани. Какой из них является более эффективным?
3. Для оценки профиля метилирования ДНК Вами использовался метод регрессионного анализа. Имеются ли другие методы сравнительного количественного анализа статуса метилирования ДНК и почему выбран именно этот метод?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ялаева Булата Илдусовича на тему: «Исследование генетических и эпигенетических факторов формирования остеопороза» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки), является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для специалистов медико-биологического профиля, медицинских генетиков и врачей-специалистов, занимающихся диагностикой и лечением остеопороза, так как решает проблему поиска генетических, эпигенетических маркеров развития остеопоретических переломов, низкого уровня минеральной плотности костной ткани, эффективности антирезорбтивной терапии данной патологии с учётом гендерных и этнических факторов у женщин и мужчин из Волго-Уральского региона России.

По своей актуальности, новизне, объёму выполненных исследований, глубине анализа полученных данных и их доказательности, научной и

практической ценности выводов и практических рекомендаций, диссертация полностью соответствует требованиям положения "О присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании кафедры медицинской генетики ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, протокол № 3 от 15 марта 2022 года.

Заведующий кафедрой медицинской генетики, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России кандидат биологических наук



Харченко Т.В.

Отзыв составлен профессором кафедры медицинской генетики ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России доктором медицинских наук, доцентом Кадуриной Т.И.

