

ОТЗЫВ

официального оппонента д.б.н. Глотова Андрея Сергеевича на диссертационную работу Ялаева Булата Илдусовича «Исследование генетических и эпигенетических факторов формирования остеопороза», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки)

Актуальность темы выполненной работы

Исследование молекулярно-генетических маркеров остеопороза (ОП) и его фенотипических предикторов представляет большую ценность для развития как геномной, так и профилактической медицины. Известно, что данному заболеванию подвержены более 200 млн человек по всему миру, при этом чаще всего ОП диагностируется у женщин постменопаузального возраста (более 30%).

Остеопороз не имеет патогномоничных клинических признаков и единственными симптомами, которые могут указывать на наличие заболевания, являются увеличение грудного кифоза и потеря роста. Несмотря на то, что сегодня существует алгоритм, который умеет интегрировать известные клинические факторы риска, такие как история переломов, сопутствующие заболевания, возраст, индекс массы тела, уровень минеральной плотности костной ткани и по бальной шкале выводит заключение о 10-летнем риске переломов, ранняя профилактика и прогноз риска заболевания на досимптомном уровне остается актуальной.

Известно, что генетические маркеры вносят определенный вклад в риск получения переломов в зависимости от локализации патологического процесса, и могут быть связаны низким уровнем МПКТ. А с учетом того, что ОП подвержены не только женщины, но и мужчины, так как известен половой диморфизм в патогенезе данного заболевания, то интерес для исследования представляет гендер-обусловленный вклад генетических и эпигенетических маркеров в риск развития переломов и формирования низкого уровня минеральной плотности костной ткани (МПКТ).

В связи с тем, что подавляющая часть диагностированного остеопороза приходится на пациентов, обратившихся только после перелома, существует необходимость создания современных и персонализированных подходов мониторинга и ранней диагностики развития заболевания, особенно первичного остеопороза, в патогенез которого большой вклад вносят наследственные факторы, часть из которых уже известно.

Однако в связи с интенсивным развитием математического аппарата в генетике, современных методов исследования существенно расширены горизонты для переоценки ранее полученных данных и появляется возможность более глубокого комплексного анализа генетических и эпигенетических маркеров вкупе с клиническими предикторами. С точки зрения поиска маркеров риска, интересным представляется исследование малоизученных к настоящему времени эпигенетических маркеров остеопороза, а также генетических локусов, которые влияют на активность микроРНК, а именно – полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в целевых генах, вовлеченных в метаболизм костной ткани.

Таким образом, диссертационная работа Ялаева Б.И. является актуальной и востребованной научной работой, представляющей высокую ценность как для расширения теоретических знаний о патогенезе заболевания, так и для практического применения в профилактике ОП.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Комплексное исследование клинико-генетических факторов риска формирования остеопороза позволила соискателю провести оценку вклада как клинических, так и генетических факторов в риск развития остеопороза в целом, так и для отдельных фенотипов заболевания: переломов и низкого уровня МПКТ в целом и отдельных локализации. Так, обнаружены маркеры переломов и низкого уровня МПКТ в гене остеопротегерина, сайтах связывания микроРНК в мРНК целевых генов и генах микроРНК. Впервые обнаружен эпигенетический маркер остеопороза – пониженный уровень профиля метилирования гена *RUNX2* у женщин из Волго-Уральского региона России. Также на основе ряда данных об

изученных полиморфных локусах установлены клинико-генетические модели, прогнозирующие переломы шейки бедра у мужчин и женщин и позвоночника у мужчин. В работе впервые для данного заболевания в России использован метод полигенной оценки риска на основе 140 полиморфных локусов, разработаны модели, прогнозирующие развитие постменопаузального остеопороза в целом, переломов и низкого уровня МПКТ по отдельности у женщин из Волго-Уральского региона, а также у женщин татарского и русского происхождения.

Научно-практическая значимость работы

Полученные результаты могут стать основой для разработки комплекса диагностических мер с использованием идентифицированных ДНК-маркеров, а также внедрения метода полигенной оценки риска для прогнозирования индивидуального риска развития остеопороза. Кроме того, результаты могут служить в качестве теоретического материала для учебных пособий при подготовке специалистов медико-биологического профиля, а также рассматриваться в качестве рекомендательной базы при назначении антирезорбтивной терапии врачами-травматологами.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Диссертационная работа Ялаева Б.И. выполнена на большой репрезентативной выборке женщин и мужчин (1463 индивида), которая была сформирована с использованием соответствующих методов диагностики (денситометрии и др.) под наблюдением врачей-травматологов с учетом критериев исключения для набора пациентов только с первичным наследственно-обусловленным остеопорозом. Работу отличает четкий и структурированный дизайн исследования, высокий методический уровень выполнения поставленных задач, полученные результаты соответствуют поставленной цели, представленные результаты сравнительного анализа приведены в полном объеме. Применен широкий спектр методов молекулярно-генетического анализа (полимеразная цепная реакция в реальном времени с использованием технологии KASP-генотипирования, пиросеквенирование на платформе Pyromark Q24 и др.).

Применены современные методы статистического анализа: логистический регрессионный анализ, ROC-анализ и полигенная оценка риска с применением пакетов программ PLINK и Rstudio.

Все выводы и положения, выносимые на защиту, основаны на статистически достоверных результатах. Результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях, а также опубликованы в 21 научной работе, среди которых 8 статей в журналах, входящих в перечень ВАК, в том числе 3 статьи в журналах, индексируемых Scopus и Web of Science.

Структура работы

Диссертационная работа в объеме 277 страниц построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты обсуждения, заключение, выводы, список литературы и приложение. Приведено 49 иллюстрации и 89 таблиц, список литературы включает 172 источника, среди них – 10 отечественных и 162 зарубежных, в работе автор ссылается на более 50 литературных источников, которые были опубликованы в течение последних 5 лет.

Во **«Введении»** автором подробно и емко изложены основные данные, которые обосновывают актуальность проведения диссертационного исследования, позволяющих судить о научном заделе в данном направлении, в соответствии с освещенной проблематикой сформулированы цели и задачи исследования.

«Обзор литературы» в полном объеме отражает современные представления и знания о изучаемом заболевании. В частности, приведен обзор распространенности остеопороза, современных методов диагностики, об их преимуществах и недостатках, состояния проблемы по изучению молекулярно-генетических основ генетики остеопороза во всем мире, довольно подробно приведен обзор по сравнительному новому направлению изучения эпигенетических механизмов, вовлеченных в патогенез ОП. Приведены результаты предыдущих исследований лаборатории Института биохимии и генетики РАН. Однако не так подробно освещены результаты аналогичных работ

коллег из других Институтов и Университетов. Отдельная подглава посвящена обзору современного и перспективного метода – полигенной оценке риска, которая представляет собой биоинформатический анализ, позволяющий оценить вклад одновременного большого количества полиморфных локусов на риск развития заболевания.

«**Материалы и методы**» включают подробное описание структуры исследуемой выборки мужчин и женщин, а также методов молекулярно-генетического анализа, а именно, выделения ДНК, полимеразной цепной реакции, бисульфитной конвертации и пиросеквенирования. Описание методов не перегружено излишне подробной информацией, однако, является вполне достаточным для понимания их сущности с точки зрения обоснованности подбора в соответствии с выполняемыми задачами.

В главе «**Результаты и обсуждение**» представлены результаты сравнительного анализа, которые разделены на ряд подглав в соответствии с дизайном исследования, а именно: сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов гена остеопротегерина, витамина Д, генов и сайтов связывания микроРНК, анализ профиля метилирования генов, вовлеченных в патогенез соединительной ткани, анализ динамики уровня МПКТ и сывороточного витамина Д в зависимости от полиморфных вариантов генов чувствительности к аминобисфосфонатам и витамину Д в на фоне антирезорбтивной терапии, и, наконец, разработка клинико-генетических моделей, а также моделей полигенной оценки риска. Достоверность расчетных данных, подкрепленных иллюстрациями и табличными данными, не вызывает сомнений, описание сопровождается обсуждением, придающим главе логический и законченный вид.

В «**Заключении**» работы анализируются основные полученные результаты, которые также сравниваются с мировыми данными.

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

В целом при анализе работы Ялаева Б.И. возникли следующие вопросы:

1. В связи с чем этнический состав женщин исследуемой группы (67% русских и 33% татар) отличается от этнического состава мужчин (72% русских, 28% метисов от браков русских и татар)?
2. Что было критерием отбора полиморфных вариантов в генах и сайтах связывания микроРНК? Вы включали в исследование только гены микроРНК, имеющие интронное происхождение?
3. Как автор может объяснить вероятную патогенетическую природу ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК и остеопротегерина с переломами или низким уровнем МПКТ в отдельных локализациях, в частности в шейке бедра или поясничном отделе позвоночника?
4. Полученные модели прогнозирования риска развития переломов шейки бедра у женщин и продолжительности менопаузы демонстрируют высокую чувствительность, специфичность и предсказательную ценность. Проводилась ли полигенная оценка риска развития остеопороза по данным GWAS другими исследователями и наблюдается ли разница в полученных результатах? Почему данная оценка проведена только для женщин?
5. На сколько лучше модели предсказания риска, основанные на генах и клинических признаках, традиционных методов оценки риска переломов?

Среди замечаний к работе следует отметить следующее:

1. В работе не хватает сравнительного обсуждения ранее полученных результатов коллектива и тех данных, которые Автор получил непосредственно в этом исследовании.
2. В тексте обозначение и написание как аллелей, так и генотипов вариантов изученных генов приведено не корректно.
3. Хорошо бы было результаты, представленные в графике 49, «превратить» в последовательный алгоритм профилактики риска остеопороза.

Заключение

Диссертационная работа содержит огромный объем результатов, полученных с использованием комплексного клинико-генетического подхода,

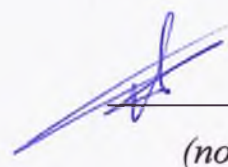
высокую долю обсуждения и достаточную доказательную базу, которая приведена в полном объеме вместе с приложением диссертации. Работа соискателя вносит большой теоретический вклад в понимание основ молекулярного патогенеза остеопороза и имеет огромный потенциал для дальнейшего развития. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. Результаты работы имеют высокую ценность для совершенствования систем ранней диагностики заболевания и увеличения эффективности персонализированного подхода к терапии первичного остеопороза с учетом индивидуального генетического профиля.

С учетом вышесказанного, диссертационная работа Ялаева Булата Илдусовича «Исследование генетических и эпигенетических факторов формирования остеопороза», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки), является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой. Таким образом, диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-11,13-14 установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным 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).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук Глотов Андрей Сергеевич, руководитель отдела геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта».

Глотов Андрей Сергеевич

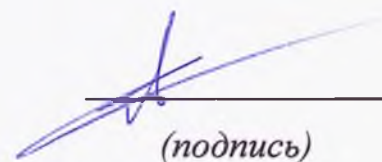


(подпись)

« 21 » 03 2022 г.

Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе "Исследование генетических и эпигенетических факторов формирования остеопороза", представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Глотов Андрей Сергеевич



(подпись)

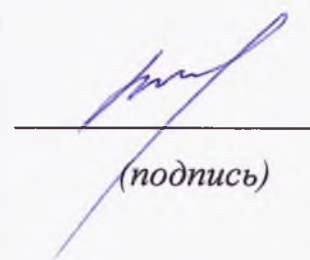
«21» 03 2022 г.

Адрес места работы: 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта».

Подпись Глотова Андрея Сергеевича заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», кандидат медицинских наук

Капустин Роман Викторович



(подпись)

«21» 03 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3, тел.: +7(812) 679-55-51, факс: +7 (812) 328-23-61, e-mail: iagmail@ott.ru