

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Хаджиевой Марьям Борисовны «Генетические ассоциативные исследования риска развития пролапса тазовых органов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика

**Актуальность темы.** В структуре гинекологических заболеваний частота пролапса тазовых органов достигает 40% и занимает третье место среди причин для операционных вмешательств. Основной этиологической причиной развития пролапса является нарушение тканей связочного аппарата тазовых органов в процессе родов. Известно, что риск возникновения пролапса увеличивается с каждым последующим рождением. С другой стороны, близнецовыми исследованиями показано, что до 43% вариабельности, связанной с риском развития пролапса, обусловлено наследственностью. Однако, несмотря на высокую частоту заболеваемости, генетические факторы развития данной патологии практически не изучены. В этой связи изучение вклада генетических факторов в увеличение риска развития пролапса тазовых органов является важной задачей. Особенностью данной мультифакторной патологии является возможность выделить «главные» гены-кандидаты, в том числе гены, участвующие в синтезе и деградации компонентов соединительной ткани влагалища. Изучение данных генетических факторов, а также их взаимодействия с клиническими факторами способствует изучению механизмов патогенеза данного заболевания, обоснованию методов профилактики прогрессирования заболевания, а в перспективе – и его лечения. В этой связи актуальность темы диссертационной работы, направленной на поиск полиморфных вариантов, ассоциированных с повышенным риском развития пролапса тазовых органов и оценку взаимосвязи клинических и генетических факторов риска развития пролапса не вызывает сомнений.

**Научная новизна и практическая значимость.** В ходе выполнения диссертационной работы получен ряд новых результатов. Во-первых, впервые исследована ассоциация с пролапсом тазовых органов полиморфных вариантов, обеспечивающих полное покрытие генов фибулина-3, 5 (*FBLN3*, *FBLN5*), и лизилоксидазоподобного белка 1 (*LOXL1*). Для гена *FBLN5* выявлен рискованный гаплотип, состоящий из 12 аллелей и доказана роль комбинации клинических (неоднократные роды, макросомия плода, травмы мягких родовых путей) и генетических факторов риска развития пролапса тазовых органов.

Во-вторых, автором верифицирована на независимой выборке европеоидов корреляция участка хромосомы 9q21 с развитием тяжелых форм пролапса и показана целесообразность подбора полиморфных вариантов при планировании ассоциативных исследований с помощью ресурса RegulomeDB.

В-третьих, по каталогу PheWAS выполнен поиск полиморфных вариантов генов, ассоциированных с пролапсом тазовых органов. Биоинформационный анализ выявил связь риска развития пролапса с группой генов, отвечающих за минеральную плотность костной ткани. Таким образом, автором показана перспективность использования каталога PheWAS для изучения роли варибельности групп генов, не относящихся к традиционно изучаемым в связи с конкретным заболеванием генам.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Автором изучен генетический статус женщин с пролапсом тазовых органов по носительству рискованных аллелей и гаплотипов генов *FBLN5*, *LOXL1* с учетом клинических факторов, что вносит вклад в изучение механизмов патогенеза данного заболевания. Полученные данные могут быть применены при прогнозировании повышенного риска развития пролапса тазовых органов у женщин любого возраста для последующей разработки комплекса превентивных мер с целью уменьшения риска развития тяжелых форм дисфункции тазового дна. Следует отметить новые данные об ассоциации с пролапсом тазовых органов группы генов, контролирующей минеральную плотность костной ткани.

**Содержание работы.** Диссертационная работа Хаджиевой Марьям Борисовны построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, методов исследования, клинической характеристики пациенток, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы, приложений. Работа изложена на 130 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, иллюстрирована 17 рисунками. Библиографический список включает 34 отечественных и 172 зарубежных источников, а также 15 интернет-ресурсов.

Во введении четко обоснована актуальность, сформулированы цели и задачи исследования, определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Глава «Обзор литературы» включает разделы, посвященные эпидемиологии и патогенезу изучаемого многофакторного заболевания. В частности рассмотрена частота регистрации пролапса тазовых органов в зависимости от уровня развития страны, возраста женщин, их расовой принадлежности. Во второй главе обзора литературы рассмотрен патогенез, классификация форм и симптомы пролапса тазовых органов. Приведены данные об ассоциации пролапса с другими заболеваниями, связанными с нарушением

соединительной ткани. В третьей главе обзора литературы приведены данные об основных факторах риска развития пролапса тазовых органов, разделенных на три группы: предрасполагающие, инициирующие и содействующие. Среди содействующих факторов рассмотрена роль возраста, образа жизни / профессиональной деятельности женщины. Среди основных инициирующих факторов основное внимание уделено роли родов и их числа. К предрасполагающим факторам отнесены семейный анамнез и генетические особенности, прежде всего по генам, контролирующим образование компонентов соединительной ткани. Генетически гетерогенной группе недифференцированных дисплазий соединительной ткани посвящена четвертая глава обзора литературы. В главе приведены данные о сочетанном проявлении признаков пролапса тазовых органов и дисплазии соединительной ткани, которые позволили автору предположить, что пролапс тазовых органов является частичным проявлением системной дисплазии соединительной ткани на уровне репродуктивной системы. В следующих двух подразделах обзора литературы приведены данные о роли генетических факторов в развитии пролапса тазовых органов. Рассмотрены данные о роли нарушения метаболизма коллагена, эластина. Приведена информация о значимости функциональной активности матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в ремоделировании тканей. Рассмотрена роль генов других функциональных групп (рецепторов эстрогенов, прогестерона, релаксина, *HOX* генов, генов системы детоксикации и др.). Особое внимание уделено генам, контролирующим процессы эластогенеза - фибулина-3, 5 (*FBLN3*, *FBLN5*), и лизилоксидазоподобного белка 1 (*LOXLI*). Глава написана интересно и отражает современные представления об изучаемой проблеме.

В главе «Методы исследования» отражены клинические методы исследования; приведена подробная информация о методах подбора полиморфных вариантов для ассоциативного исследования. При этом было использовано несколько подходов – подбор таргетных SNP с помощью программы HaploView, подбор полиморфных вариантов, коррелирующих с уровнем экспрессии генов-кандидатов с помощью ресурса SNPexp. Для подбора полиморфных вариантов участка хромосомы 9q21 впервые был использован ресурс RegulomeDB. Для верификации результатов полногеномного исследования на российской выборке было отобрано 6 SNP с различным регуляторным потенциалом. Глава также содержит описание методов пробоподготовки биологического материала, постановки тетра-примерной аллель-специфичной ПЦР и детекции результатов ПЦР. В завершении главы приводится описание методов статистической обработки результатов исследования.

В главе «Клиническая характеристика пациенток» дано подробное описание групп исследуемых женщин. Приведены критерии исключения женщин из обследования. Необходимо отметить строгие критерии включения женщин в основную группу – были отобраны пациентки с четко выраженным проявлением пролапса. Глава содержит информацию о сравнительных показателях предъявляемых жалоб в основной и контрольной группах, о факторах риска и сопутствующих факторах возникновения пролапса тазовых органов, зафиксированных в двух группах женщин. Весь цифровой материал при сравнении групп женщин статистически обработан.

Представленные в следующей главе результаты экспериментальных исследований являются компонентами единой, хорошо продуманной исследовательской программы. Все данные представлены «прозрачно», диссертацию удобно читать и анализировать полученные результаты.

В рамках раздела «Полиморфизм генов, контролирующих процессы эластогенеза, и риск развития пролапса тазовых органов» приведены результаты о частотах аллельных вариантов генов фибулина-3, 5 (*FBLN3*, *FBLN5*) и лизилоксидазоподобного белка 1 (*LOXL1*), участвующих в контроле синтеза и организации эластических волокон. В работе выявлены рискованные аллели для генов *FBLN5*, *LOXL1*, а также гаплотипы из 12 и 6 аллелей гена *FBLN5*, ассоциированные с развитием пролапса тазовых органов. Показано, что ген фибулина-5 вовлечен в контроль баланса и синтеза эластических волокон *de novo* в поврежденных или активно обновляющихся тканях, а не их исходной эластичности.

В следующем разделе «Верификация результатов полногеномных исследований» приведены результаты анализа 12 генетических вариантов участков хромосом 4q21, 9q22, 15q11, 20p13, 21122, 9q21, выявленных в двух GWAS, на независимой российской выборке женщин. Установлена ассоциация участка хромосомы 9q21 с развитием пролапса тазовых органов. SNP с максимальной функциональностью является rs12237222.

В разделе «Полиморфизм генов *COL3A1*, *MMP9*, *ESR1* и *PGR* и риск развития пролапса тазовых органов. Мета-анализ» описаны результаты исследования 4-х полиморфных вариантов указанных генов, ранее выявленных зарубежными авторами. В соответствии с критериями отбора результатов в мета-анализ было включено 5 полнотекстовых статей. Из четырех полиморфных вариантов генов *COL3A1*, *MMP9*, *ESR1* и *PGR* мета-анализ показал значимую ассоциацию с пролапсом тазовых органов одного генотипа - rs1800255-A/A (*COL3A1*).

Следующий раздел собственных результатов исследования содержит данные по анализу полиморфных вариантов и групп генов, ассоциированных с пролапсом тазовых органов в каталоге PheWAS. При поиске ассоциаций была определена группа из 6 генов

(WLS, SP7, MEPE, C6ORF10, CCDC170, SPTBNI), участвующих в контроле минеральной плотности костной ткани. Наиболее выраженный эффект установлен для гена SP7.

В главе «Обсуждение полученных результатов» диссертант обобщает полученные результаты и сопоставляет с данными литературы.

Выводы диссертационной работы обоснованы и соответствуют полученным результатам.

**Заключение.** Диссертация Хаджиевой М.Б. является законченным комплексным исследованием, вносящим вклад в решение ряда проблем здоровья человека. Полученные автором результаты расширяют наши знания об основных причинах формирования пролапса тазовых органов. Данное исследование имеет существенное научное и практическое значение. Основные положения работы опубликованы в научной печати, прошли обсуждение на Международных и Всероссийских симпозиумах и конференциях и вызвали большой интерес у специалистов. Все выводы обоснованы, автореферат отражает основные положения диссертационной работы. Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с требованиями ВАК.

По объему исследований и научно-практической значимости диссертационная работа Хаджиевой М.Б. на тему: «Генетические ассоциативные исследования риска развития пролапса тазовых органов», соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Хаджиева Марьям Борисовна заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв подготовлен:

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Южный федеральный университет»,  
Академия биологии и биотехнологии, кафедра генетики,  
доцент, доктор биологических наук по специальности  
03.02.07 - генетика

Машкина Елена Владимировна

344006, Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105

тел.: 8(863)2198812, e-mail: [lenmash@mail.ru](mailto:lenmash@mail.ru)

18 октября 2016 года



*Машкина*

Личную подпись  
удостоверяю

Ученый секретарь Совета  
Южного федерального университета  
Мирошниченко О.С.

*Машкина Е.В.*