

Отзыв официального оппонента
на диссертационную работу **Кондратьевой Натальи Сергеевны**
«Характеристика молекулярно-генетических маркеров патогенеза
мигрени», представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

По данным ВОЗ, мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности. В России цифры распространенности мигрени превышают мировые показатели почти в 1.5-2 раза и составляют около 20% взрослого населения. Ежегодные косвенные расходы (потеря дней трудоспособности) по причине первичных головных болей составляют около 22.8 млрд. долларов США, что составляет 1.75% от валового внутреннего продукта России. Затруднительная ситуация возникает и при постановке диагноза, так как он является исключительно клиническим, и любые диагностические тесты направлены лишь на исключение иных причин головной боли. Значимыми проблемами являются проблемы терапии мигрени и ее перехода в хроническую fazу.

В виду того, что среди родственников пациентов мигрень встречается достоверно чаще, чем в общей популяции, роль наследственного фактора в развитии мигрени, по-видимому, существенна. При использовании ассоциативных исследований генов-кандидатов, способных повышать риск заболевания или определять особенности его течения, были достигнуты определенные успехи, однако выявить «ген мигрени» не удалось – вероятно, вследствие того, что в формировании патогенетических механизмов участвует более одного гена.

Таким образом, тема диссертационной работы Н.С. Кондратьевой является актуальной и полностью соответствует задачам медицинской генетики.

Основные результаты выполненной работы

Автором проведена масштабная работа по созданию списка генов, для которых показана функциональная ассоциация с мигренью, на основании которого были построены схемы молекулярных сигнальных путей, описывающие возможные механизмы патогенеза мигрени, и на основании 22 полиморфизмов отобрано 14 генов для дальнейшего молекулярно-генетического анализа.

В ходе работы были определены частоты аллельных вариантов в 14 генах (*ACE*, *BDNF*, *CCK*, *CCKAR*, *CCKBR*, *CGRP*, *DBH*, *MTDH*, *MTHFR*, *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* и *SNAP25*) у пациентов, страдающих мигренью ($n=146$) и у представителей контрольной группы ($n=363$). Был найден 41 комплексный генотип, ассоциированный с мигренью ($p<0,03$). Было показано, что среди исследованных вариантов наибольший вклад в развитие заболевания вносит аллель *CCKAR_rs1800857:C*.

В результате обобщения и анализа полученных данных, удалось предположительно оценить роль различных аллелей 5 генов из состава охарактеризованных комплексных генотипов в изменении работы некоторых молекулярных сигнальных путей. Были

предложены новые механизмы, теоретически способные влиять на формирование мигренозного приступа.

Научная новизна и практическая значимость исследования

Диссертантом в данной работе построены схемы молекулярных сигнальных путей патогенеза мигрени, описывающие механизмы развития заболевания. Насколько мне известно, в мировой практике это первая работа, использующая данный подход для изучения головной боли. Построенные схемы молекулярных сигнальных путей патогенеза мигрени, в случае их экспериментального подтверждения, способны внести вклад в понимание механизмов развития данного заболевания и могут способствовать поиску новых биомаркеров и мишней для лекарственной терапии.

Впервые определены частоты генотипов и аллелей замен в генах *ACE*, *BDNF*, *CCK*, *CCKAR*, *CCKBR*, *CGRP*, *DBH*, *MTDH*, *MTHFR*, *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* и *SNAP25* у пациентов, страдающих мигренью и у контрольной группы, проживающих в Москве и Московской области.

Впервые в мире проведен поиск ассоциаций полиморфизмов в генах *CCK*, *CCKAR*, *CCKBR*, *SNAP25* у пациентов, страдающих мигренью. Впервые найдены статистически значимые ассоциации с мигренью для полиморфных вариантов генов *CCKAR* (rs1800857 аллель C), *CCKBR* (rs1805000 аллель T). Подтверждена ассоциация гена *MTHFR* (rs1801133 аллель T) с мигренью для популяции из Московского региона.

По-видимому, впервые выявлены комплексные генотипы, повышающие риск развития мигрени; в то время как в опубликованных к настоящему времени работах рассматривают ассоциации отдельных полиморфных вариантов генов с этим заболеванием.

Полученные данные по ассоциации полиморфных вариантов генов *CCKAR* (rs1800857), *CCKBR* (rs1805000) и *MTHFR* (rs1801133) расширяют представления о причинах развития патологического процесса и могут стать основой для создания тест-систем для диагностики предрасположенности, а также для подбора новых мишней лекарственных средств.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа выполнена по традиционному плану. Содержание работы изложено на 173 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы, список используемой литературы, приложения (4 шт). Работа включает 15 иллюстраций и 9 таблиц. Библиографический указатель включает 370 источников по 2016 год включительно, из них 8 отечественных и 362 – зарубежных авторов.

Цель и задачи исследования сформулированы четко и логично. В главе «Обзор литературы» проанализированы данные последних лет по теме исследования. Автором детально описаны эпидемиология мигрени в мире и в РФ, патофизиологические теории и молекулярно-генетические исследования. Подробно представлен раздел «Материалы и методы», в котором содержится вся необходимая информация о выборке и методах, использованных в работе.

Глава «Результаты и обсуждение» содержит большое количество иллюстрированного материала и таблиц, полученного при анализе полученных данных. Основным инструментом

на первом этапе работы была реферативная база ResNet11, с помощью которой автор провел поиск генов, ассоциированных с мигреню. На основании найденной информации была составлена база данных и с помощью программы PathwayStudio построены схемы сигнальных путей, описывающие возможные механизмы патогенеза мигрени. В результате был сформирован список генов для дальнейшего молекулярно-генетического анализа.

На следующем этапе работы были определены частоты генотипов и аллелей замен в генах *ACE*, *BDNF*, *CCK*, *CCKAR*, *CCKBR*, *CGRP*, *DBH*, *MTDH*, *MTHFR*, *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* и *SNAP25* у пациентов, страдающих мигренью и контрольной группы. В ходе исследования найдены статистически значимые ассоциации с мигренью для полиморфных вариантов генов *CCKAR* (*rs1800857* аллель C), *CCKBR* (*rs1805000* аллель T) и *MTHFR* (*rs1801133* аллель T), данные аллели, по-видимому, могут иметь доминантный характер наследования.

На третьем этапе работы с помощью программы APSampler v3.6 было выявлено 7 комплексных генотипов, повышающих риск развития мигрени более чем в 10 раз. Было показано, что значительный вклад в развитие заболевания вносит аллель CCKAR_rs1800857:C. На завершающем этапе данной работы была оценена потенциальная роль аллелей 5 генов, входящих в состав 7 охарактеризованных комплексных генотипов, в модификации работы молекулярных сигнальных путей. Исходя из этого, доктором высказано предположение о возможных механизмах, приводящих к формированию мигренозного приступа. В частности, автором было предположено, что в основе патогенеза мигрени лежит прежде всего дофаминовая регуляция. Было предсказано, что центральным нейромедиатором, вовлеченным в патогенез заболевания, вероятно, является глутамат, а молекулы, ответственные за вазодилатацию и боль (основные симптомы мигрени) - это монооксид азота и CGRP.

В разделе «Заключение» автором подводится итог исследования, и перечисляются основные данные, полученные в ходе диссертационной работы.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровнях с использованием современных молекулярно-генетических методов. Работа представляется логически завершённой (цель исследования достигнута и полученные данные обоснованы), тщательно оформлена, базируется на большом количестве материала, что обеспечивает достоверность полученных результатов.

Результаты диссертационной работы отражены в 36 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях, из которых 4 - в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ для защиты кандидатских диссертаций. Выполненная автором работа не вызывает каких-либо принципиальных замечаний по своему оформлению. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение о научно-практической ценности работы и ее соответствие требованиям ВАК

Диссертационная работа Кондратьевой Н.С. представляет собой самостоятельное научное исследование, в котором решаются задачи, имеющие важное практическое и

фундаментальное значение для генетики и медицины. Достоверность и обоснованность экспериментальных результатов и выводов не вызывает сомнения.

Таким образом, диссертационная работа Кондратьевой Натальи Сергеевны на тему «Поиск молекулярно-генетических основ патогенеза мигрени», полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК МОН РФ, утвержденных Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям, а её автор, Кондратьева Наталья Сергеевна, достойна присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Отзыв подготовил
Буздин Антон Александрович
д.б.н., в.н.с., ИБХ РАН

«15» сентябрь 2017г.

Подпись д.б.н. А.А. Буздина заверяю
Учёный секретарь ИБХ РАН
д. ф.-м. н. Олейников Владимир Александрович



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.
Адрес: 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10
Телефон канцелярии: +7 (495) 335-01-00
Эл. почта: office@ibch.ru