

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

Актуальность исследования

Мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности, сопоставимой с такими заболеваниями как онкологическая патология, сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания и др. По данным эпидемиологических исследований распространенность мигрени в мире за 1 год среди взрослого населения составляет в среднем от 10.2% до 14.7%, в России этот показатель превышает средние мировые значения, составляя 20.3%. Диагноз «мигрень» является исключительно клиническим и устанавливается при исключении других причин головной боли. В связи с этим определенная «объективизация» диагноза с помощью биологических маркеров, в том числе и генетических, которые могут позволить прогнозировать предрасположенность к болезни и тяжесть ее течения, является своевременной и необходимой. Несмотря на наличие широкого спектра традиционных анальгетиков и специфических противомигренозных препаратов терапия пациентов с мигренью не всегда эффективна, что диктует поиск новых лекарственных мишеней.

Многочисленные исследования семей с наследственной отягощенностью по мигрени, а также близнецовых пар, показали, что вклад генетических факторов в развитие этого заболевания достаточно высок. Коэффициент наследуемости варьирует по разным данным от 30 до примерно 60%.

Одной из основных проблем в изучении механизмов патогенеза мигрени является отсутствие моделей данного заболевания у животных. Это связано в первую очередь с практически невозможным определением и анализом головной боли у животных. Другая, не менее значимая проблема это сложность в переносе данных о механизмах развития редких наследственных

форм мигрени (семейная гемиплегическая мигрень) на классическую мигрень (как с аурой, так и без). Поэтому, единственным адекватным подходом для изучения молекулярных механизмов патогенеза мигрени на сегодняшний день является анализ имеющейся литературы с использования современных программных средств и построение схем сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий на основе данных литературы с последующей экспериментальной проверкой молекулярно-генетических и биохимических изменений у пациентов с мигренью.

Таким образом, тема диссертационной работы Кондратьевой Н.С., посвященная поиску молекулярно-генетических основ патогенеза мигрени, является актуальной и соответствует задачам клинического назначения медицинской генетики.

Теоретическая значимость исследования

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что впервые в РФ построены схемы молекулярных сигнальных путей патогенеза мигрени, описывающие механизмы развития заболевания; определены частоты генотипов и аллелей замен в генах связанных с дофаминовым обменом, метаболизмом фолатов, энергетическим метаболизмом, нейротрофическими факторами у пациентов, страдающих мигренью и контрольной группы, проживающих в Москве и Московской области. Впервые в мире проведен поиск ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов в генах кодирующих холецистокинин и его рецепторы типа А и В, а также белок, ассоциированный с синаптосомами, который участвует в транспорте везикул к синапсам дофаминовых нейронов, у пациентов, страдающих мигренью. Впервые найдены ассоциации с высоким уровнем значимости вариантов генов холецистокининового рецептора типа А и типа В, а также подтверждена выявленная ранее ассоциация гена метилентетрагидрофолатредуктазы с мигренью для популяции Москвы и Московской области.

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 заболеванием.

Научно-практическая значимость

Построенные автором работы схемы молекулярных сигнальных путей патогенеза мигрени и выявленные ассоциации между вариациями в генах, принимающих участие в транспорте и рецепции нейротрансмиттеров, а также метаболизме фолатов, расширяют представления о формировании патологического процесса, вносят существенный вклад в понимание механизмов развития данного заболевания и будут способствовать поиску новых биомаркёров заболевания и мишней для лекарственной терапии.

Выявленные в ходе работы ассоциированные с мигреню комплексные генотипы легли в основу тест-системы для подтверждения диагноза мигрень.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа написана по традиционному плану, состоит из введения и трех глав – I – «Обзор литературы», II - «Материалы и методы», III - «Результаты и обсуждение», выводов, списка используемой литературы и четырёх приложений.

Диссертация изложена на 173 страницах печатного текста, иллюстрирована 15 рисунками и 9 таблицами. Список литературы включает 370 источников включительно по 2016 год, в том числе 8 в отечественных изданиях.

Во введении убедительно обоснована актуальность выбранной темы, ее научная новизна и практическая значимость. Цель и задачи исследования сформулированы четко и логично.

В обзоре литературы, большое вниманиеделено эпидемиологии мигрени в мире и в РФ, патофизиологическим теориям. Отдельный раздел посвящен молекулярно-генетическим исследованиям мигрени.

В главе «Материалы и методы» дана характеристика материала исследования, представленного исследуемой выборкой пациентов с мигреню (146 человек) и контрольной группой (363 человека); дано описание молекулярно-генетическим методам исследования, использованным методам статистической обработки и алгоритму построения схем сигнальных путей.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из 3 разделов.

В первом разделе проведен поиск в базах данных научной литературы генов, ассоциированных с мигренью с помощью реферативной базы ResNet11.

Во втором разделе были построены гипотетические схемы сигнальных путей с помощью программы PathwayStudio, описывающие возможные механизмы патогенеза мигрени. Были предложены модели схем молекулярных сигнальных путей всех форм семейной гемиплегической мигрени, которые были использованы как отправные точки для создания схем сигнальных путей обычной мигрени. На основании анализа полученных схем были отобраны гены для дальнейшего анализа.

Третий раздел включает в себя молекулярно-генетический анализ. На этом этапе работы были определены частоты генотипов и аллелей замен в генах, связанных с дофаминовым обменом, метаболизмом фолатов, энергетическим метаболизмом, нейротрофическими факторами, у пациентов, страдающих мигренью и контрольной группы. В ходе исследования найдены статистически значимые ассоциации с мигренью для полиморфных вариантов генов холецистокининового рецептора типа А и типа В, а также гена метилентетрагидрофолатредуктазы, выявленные аллели риска имеют домinantный характер наследования. С помощью программы APSampler v3.6 выявлено 7 комплексных генотипов, повышающих риск развития мигрени более чем в 10 раз. Было показано, что значительный вклад в развитие заболевания вносит аллель С в полиморфном участке гена холецистокининового рецептора типа А, повышающий риск развития мигрени в 21 раз.

Составлена схема патогенеза мигрени с учетом полученных данных по ассоциации с заболеванием комплексных генотипов. На основании результатов было показано, что центральным нейромедиатором, является глутамат; молекулами, ответственными за вазодилатацию и боль, признали оксид азота и пептид, связанного с геном кальцитонина (CGRP). Также установлена значимость дофаминовой теории в патогенезе мигрени.

В разделе «выводы» автором суммированы все полученные в ходе диссертационного исследования данные.

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 диссертаций. Выполненная автором работа не вызывает каких-либо принципиальных замечаний по своему оформлению. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении работы

К несомненным достоинствам работы следует отнести высокий уровень работы с базами данных. Автор использовал реферативные базы и программы для поиска генов и построения гипотетических схем сигнальных путей, описывающих механизмы патогенеза мигрени. Этот подход является более сложным и требует более высокой квалификации, чем обычный подбор генов-кандидатов в соответствии с результатами более ранних работ в этой области. К достоинствам работы также следует отнести использование при статистической обработке данных поправки на множественность сравнений, что не часто встречается в диссертационных работах, поскольку диссертант вынужден работать с большим числом сравнений и часто рискует остаться без значимых результатов. Однако непонятно, почему в разделе, посвященном анализу данных, диссертант приводит три подхода к коррекции данных, и какой из них использован в работе. Одним из важных результатов работы является выявление генетического варианта, повышающего риск развития мигрени на 2 порядка. По моему мнению, к этому результату следует относиться с осторожностью, поскольку считается, что однонуклеотидные полиморфизмы вносят небольшой вклад в риск полигенных заболеваний, к каковым относят и мигрень. Если результат планируется внедрять в практику, желательно его подтверждение на независимой выборке.

В работе имеются некоторые погрешности, связанные с переводом английских названий генов на русский (например, «кальцитонингенсвязанный пептид» - все написано в одно слово).

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

Диссертационная работа Кондратьевой Натальи Сергеевны на тему «Поиск молекулярно-генетических основ патогенеза мигрени» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи, имеющей важное значение для медицинской генетики – поиску новых биомаркёров заболевания и мишней для лекарственной терапии, созданию тест-системы для подтверждения диагноза мигрень. По актуальности темы, степени обоснованности научных положений, сформулированных выводов, методическому уровню, объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости результатов работа 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, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Заведующая лабораторией клинической генетики ФГБНУ НЦПЗ,
доктор биологических наук, профессор,
Голимбет Вера Евгеньевна

« 14 » 09 2017 г.

Подпись руки д.б.н., проф. В.Е. Голимбет заверяю
Учёный секретарь ФГБНУ НЦПЗ
Доктор медицинских наук,
Бархатова Александра Николаевна



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья» (ФГБНУ НЦПЗ)
Адрес: Россия, 115522, Москва, Каширское ш.34.
Сайт: <http://www.psychiatry.ru/>
Телефон: +7 (495) 109-0393.
E-mail: support@ncpz.ru