

Отзыв официального оппонента
на диссертационную работу Чекалина Евгения Витальевича
**«Влияние эпигенетических факторов на развитие иммуновоспалительных
заболеваний кожи»,**
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальностям 03.02.07 — генетика, 03.01.09 – Математическая биология,
биоинформатика

Развитие геномных технологий позволяет решать множество задач как фундаментального характера, так и медицинских задач. Традиционные подходы в изучении заболеваний основаны, с одной стороны, на изучении мутаций, ассоциированных с заболеваниями (GWAS), а с другой – на сравнительном анализе экспрессии генов в здоровых и больных тканях. В последнее время все большее внимание уделяется изучению роли эпигенетических факторов, таких, как метилирование ДНК и модификации гистонов, в развитии заболеваний. Именно этой проблеме и посвящена представленная диссертация, посвященная изучению возможной роли эпигенетических модификаций в развитии иммуновоспалительных заболеваний кожи.

Работа построена традиционно и начинается с краткого введения, которое вводит читателя в круг рассматриваемых проблем и формулируются цели и задачи работы. Далее идет литературный обзор. Обзор состоит из нескольких частей, которые освещают разные аспекты проблемы. В первой части обзора даны основные сведения о псориазе с медицинской точки зрения – описаны основные формы заболевания, эпидемиология, патогенез, генетика псориаза. В частности, указаны известные на данный момент основные генетические маркеры, ассоциированные с этим заболеванием. Отдельным разделом идет описание современных представлений о роли эпигенетики в развитии псориаза. Вторая часть обзора посвящена механизмам регуляции экспрессии генов – рассмотрена эпигенетическая регуляция экспрессии. При этом не рассмотрены другие механизмы регуляции – такие как регуляция с помощью транскрипционных факторов. Далее в обзоре приведены методы анализа транскриптома, метилома и интерактома псориаза. В частности, упомянуты исследования дифференциальной экспрессии микро-РНК. Особое внимание удалено предыдущим работам по изучению метилома псориаза и связи эпигенетики с (авто) иммунным ответом. В разделе, посвященном псориазу также описаны известные в настоящее время сигнальные каскады, связанные с псориазом.

Вторая глава посвящена описанию использованных материалов и методов анализа. Первые три параграфа посвящены формальному описанию экспериментальных процедур, после чего описаны протоколы обработки данных. Начиная с пункта 2.9 приводится описание

ние собственных процедур анализа данных. Разработанные новые методы основаны на построении и анализе графов генных сетей. В основе анализа лежит вычисление взаимной информации дифференциальной экспрессии и фенотипа (больной-здоровый). Результатом анализа графов генных сетей с использованием взаимной информации строятся наиболее информативные подграфы, которые, собственно и являются основным объектом дальнейшего анализа. Для оценки статистической значимости использовался пермутационный тест.

В разделе «результаты и обсуждение» сначала приведена общая схема исследования, что значительно облегчает понимание работы. Важно упомянуть, что в работе использованы не только собственные данные, но также другие доступные данные по псориазу. На всем массиве доступных данных были проанализированы профили экспрессии. В результате анализа была получена большая таблица (вынесенная в приложение) генов со значениями дифференциальной экспрессии. Однако, осталось неясным, как интегрировались данные из разных источников. Как и ожидалось, существенную роль в развитии заболевания играют гены, связанные с иммунной системой, в частности цитокины.

Далее в этом разделе были рассмотрены данные по метилированию ДНК. Отмечено, что среди дифференциально метилированных генов есть гены-регуляторы иммунного ответа а также гены, связанные с регуляцией морфогенеза и клеточной дифференциации. Отмечено отличие полученных результатов от результатов других авторов, полученных ранее, однако анализ причин этих расхождений достаточно поверхностен.

Был также проведен анализ возможных мишней транскрипционных факторов. В этом анализе использовался разработанный автором подход поиска подграфа с максимальной взаимной энтропией. В результате был получен список мишней. Это список был сравнен с данными по дифференциальному метилированию. Удивительно, но списки дифференциально метилированных локусов и списки дифференциально экспрессированных генов имеют очень низкое перекрывание (на уровне случайного шума). Автор объясняет это тем, что мало данных, что вполне вероятно. Другое объяснение заключается в том, что взаимодействие гена-регулятора с мишенью может происходить через дополнительных агентов, например, когда один ген регулирует другой, который, в свою очередь взаимодействует с мишенью. Был проведен анализ возможной транзитивности.

Наконец, есть разделы «заключение» и «выводы», где подводится итог проведенной работы.

Вопросы и замечания.

1. Название работы имеет достаточно общий характер («...развитие иммуновоспа-

литеральных заболеваний кожи»), в то время как работа посвящена исключительно псориазу.

2. В обзоре сбита нумерация разделов. В частности есть два раздела с номером 1.2: «1.2. Механизмы регуляции экспрессии генов», «1.2. Исследования транскриптома, метилома и интерактома псориаза»
3. В обзоре в разделе про регуляцию экспрессии генов совсем не рассмотрена регуляция с помощью транскрипционных факторов, при том, что в самой работе этому посвящено довольно много материала. Для полноты картины следовало бы также упомянуть регуляцию на уровне трансляции.
4. Стр. 41. Было введено значение взаимной информации, обозначенное буквой I. Далее в тексте используется величина MI, которая, судя по контексту, и является той самой взаимной информацией (Mutual Information).
5. Стр.43. Пермутационный тест не достаточно детально описан. В его основе лежит случайный граф, однако не описано в каком пространстве строилс случайный граф – сохранялось ли только число вершин и ребер, или при построении случайного графа использовались болеетонкие методы, например, можно использовать требование сохранения распределений степеней вершин, или что-нибудь еще. Поэтому не совсем понятен смысл приведенных p-value.
6. Стр.48. Использовался t-теста Стьюдента, однако не упомянуто была ли сделана проверка данных на нормальность. Замечу, что поправка на FDR не является поправкой на p-value, а имеет совсем другой статистический смысл.
7. Раздел «Анализ дифференциальной экспрессии между поражённой и здоровой кожей». Не ясно, как интегрировались данные из разных источников. По-видимому списки дифференциально экспрессированных генов на разных наборах данных должны быть разными. Представляется разумным провести выборочный тест, при котором рассматривается не полный набор данных, а подвыборки, после чего можно было бы провести анализ констстентности результатов.
8. Рисунки не очень хорошего качества, текст на рисунках можно было бы выбрать и покрупнее.
9. Рассмотренное заболевание является аутоиммунным. Мне кажется, что кроме сравнения псориаз-здоровый было бы полезно провести сравнение с другими аутоиммунными заболеваниями, например с ревматоидным артритом или рассеянным склерозом, чтобы выявить характерные особенности каждого типа аутоиммунного заболевания.

Сделанные замечания не умаляют достоинств работы. Работа выполнена на высоком научном уровне, результаты достоверны и достаточно полно опубликованы в журналах, входящих в список ВАК, автореферат адекватно отражает содержание диссертации.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Чекалина Е. В. соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24 сентября 2014 г. С внесенными изменениями от 21 апреля 2016 г. № 335, предъявленным к диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 — генетика, 03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика

Профессор факультета биоинженерии и
биоинформатики Московского Государственного
Университета им. М.В. Ломоносова
доктор биологических наук, профессор

А.А.Миронов



Подпись профессора А. А. Миронова
заверяю

