

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Поверенной Екатерины Владимировны на диссертационную работу **Чекалина Евгения Витальевича** на тему: «*Влияние эпигенетических факторов на развитие иммуновоспалительных заболеваний кожи*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – «генетика» и 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика»

Актуальность темы.

Диссертация Евгения Витальевича на соискание степени кандидата биологических наук посвящена исследованию механизмов патогенеза псориаза. Псориаз является аутоиммунным заболеванием, возникновение и развитие которого обусловлены как генетическими, так и эпигенетическими факторами. На сегодняшний момент для данного заболевания, как и для большинства мультифакториальных заболеваний нет полного понимания механизмов патогенеза. Неполнота картины молекулярных причин возникновения и развития псориаза отражается в ограниченном наборе терапий данного заболевания, которые лишь частично компенсируют ее проявления.

Для псориаза известно, что нарушение регуляции транскрипции ряда генов является одной из причин возникновения патологии. Еще одним фактором может являться метилирование ДНК в окрестностях генов, ассоциированных с псориазом. Диссертационная работа Чекалина Е.В. направлена на поиск взаимосвязи метилирования ДНК с активностью транскрипционных регуляторов при патогенезе псориаза, в рамках которой проведен мета-анализ пула транскриптомных и эпигеномных данных для здоровой и пораженной кожи человека.

На примере псориаза автор показал возможные аспекты в механизме патогенеза заболевания, где изучение и расшифровка процессов возникновения и развития мультифакториальных заболеваний является актуальной задачей молекулярной биологии и медицины.

Научная новизна и практическая значимость исследований.

В диссертационной работе Чекалина Е.В. проведена оценка транскриптомных и эпигеномных профилей здоровых добровольцев и пациентов с псориазом, на основании которой впервые были составлены карты дифференциально экспрессирующихся генов и генов с дифференциальным метилированием. Системный мета-анализ результатов всех доступных RNA-Seq экспериментов позволил впервые предсказать ключевые транскрипционные факторы, критически значимые при развитии псориаза.

Практическая ценность данного диссертационного исследования не вызывает сомнений: она продиктована необходимостью сформировать список потенциальных лекарственных мишеней для персонализированной и таргетной терапии псориаза.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов.

По материалам диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 3 статьи в научных рецензируемых изданиях: из них 1 в российском и 2 в международных научных журналах, 1 глава монографии. Основные положения диссертационной работы были представлены в виде устных и стендовых докладов (10), преимущественно на международных конференциях. Опубликованные работы подчеркивают актуальность выполненных исследований, их обоснованность и достоверность, а также перспективу использования полученных в работе результатов.

Рекомендации по использованию результатов диссертации.

Новые данные о возможных механизмах развития патологии, полученные в работе Евгения Витальевича, дают основу к дальнейшему углубленному изучению выявленных взаимосвязей транскрипционных факторов и метилирования ДНК в патогенезе псориаза, поиску терапии псориаза и разработке соответствующих терапевтических биомаркеров.

Изложенные автором подходы к исследованию механизма возникновения и развития псориаза могут быть использованы и для анализа механизмов патогенеза ряда других мультифакториальных заболеваний.

Краткая характеристика основного содержания диссертации.

Работа изложена на 153 страницах и содержит 15 рисунков и 23 таблиц, а также приложение. Она построена по классическому принципу и включает в себя разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список используемой литературы».

Во введении автор кратко обосновывает актуальность исследований, формулирует цель, задачи, научную новизну и практическую значимость работы.

Глава «Обзор литературы» занимает примерно 15% от сутевого объема диссертации и посвящена современному состоянию исследования молекулярных механизмов патогенеза псориаза. Достаточно подробно описаны гены и локусы, ассоциированные с псориазом, пути их выявления, что полезно для корректного понимания и интерпретации результатов, полученных автором в процессе работы. В целом обзор литературы дает представление о проблеме, которую пытался решить автор в своей работе. Количество ссылок 142 (однако, в перечне есть несколько дубликатов), подавляющая часть которых относится к работам последнего десятилетия.

Раздел «Материалы и методы» описывает как стандартные процедуры анализа результатов широкомасштабных транскриптомных и эпигеномных исследований, так и предложенные автором алгоритмы обработки полученных данных. Описание использованных методов и подходов дано лаконично, но позволяет понять общую логику работы.

Глава «Результаты и обсуждения» занимает основную долю в общем объеме диссертации и состоит из четырех направлений, которые логично связаны друг с другом.

Первое направление посвящено выявлению и описанию генов, для которых характерна дифференциальная экспрессия между здоровыми образцами кожи и пораженными псориазом. В данном разделе автор представляет результаты анализа открытых данных транскриптомного секвенирования по исследованию псориаза человека, заключающиеся в выявлении 930 дифференциально экспрессирующихся генов, большинство из которых связаны с регуляцией иммунного ответа или пролиферацией клеток кожи.

Аналогично выявлению и описанию дифференциально экспрессирующихся для псориаза генов, вторая часть работы заключалась в анализе уровня метилирования ДНК. Итогом этой части работ стало выявление 899 дифференциально метилированных локусов, большинство из которых расположено в районе генов, ассоциированных с иммунным ответом и апоптозом.

На основе полученных данных по дифференциальной экспрессии генов была проведена работа по поиску соответствующих для этих генов факторов транскрипции.

Четвертая часть стала логичным сопоставлением полученных результатов дифференциально экспрессирующихся генов, соответствующих транскрипционных факторов и дифференциально метилированных локусов для здоровой и пораженной псориазом кожи. В результате предложенных автором подходов к анализу были выявлены группы генов и транскрипционных факторов, для которых отличны степени метилирования в пораженной коже.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом.

Достоинством работы является новый взгляд на патогенез псориаза, заключающийся в мета-анализе разных путей возникновения и развития данного заболевания, в частности, на основе транскриптомных и эпигеномных данных. Вызывает уважение проделанный автором большой объем работы, связанный с анализом и интерпретацией исходных данных, их сопоставления.

При знакомстве с работой возникли следующие вопросы и комментарии:

1) Текст диссертационной работы изобилует опечатками, ошибками в формулировках и несогласованностями в предложениях. Практически на каждой странице встречаются такие ограхи, которые мешают восприятию работы. К примеру, а) стр. 45 «GenomocRange» и «Bsgenome» вместо «GenomicRange» и «Bsgenome»; б) на стр. 51 «В списке ДЭГ было идентифицировано гены кератинов (Таблица 4)»; в) на стр. 71 «Для того, чтобы получить базу данных сайтов связывания регуляторов транскрипции на регуляторные области генов.»

2) Отсутствие единого стиля в оформлении таблиц и использование терминов. Так, автор в названиях таблиц может использовать английскую терминологию, а в

содержании русскоязычный перевод, который не всегда удачный (к примеру, см. табл.9, стр. 59). В таблице 1 и 2 Приложения нет пояснений сокращений, при этом сама таблица представлена не совсем корректно, где суммы «всего генов» по столбцам не совпадают с итоговой.

- 3) Автор ссылается на работы Ahn et al., 2016 и Zolotarenko et al., 2016, которых нет в перечне используемой литературы. При этом, в самом перечне присутствуют дубликаты (к примеру, 108 и 109 – одна работа Shin et al., 2018. Кроме того, нет единого стиля оформления списка публикаций.
- 4) Почему полученные автором результаты сопоставляются с его же результатами (Zolotarenko et al., 2016), согласно опубликованному списку работ автора по теме?
- 5) Почему результаты проведенного анализа метилирования ДНК не выложены в GEO?
- 6) Как проверяли отсутствие batch-эффекта при анализе метилирования ДНК (глава 2.8.)?
- 7) В автореферате при описании анализ результатов метилирования указан FDR (стр.8), а в таблице 2 автореферата, как и в тексте диссертации – поправка Бонферони.
- 8) Проводилось ли сравнение используемого подхода анализа транскрипционных регуляторов с другими алгоритмами поиска?
- 9) Также хотелось бы отметить, что Чекалин Е.В. не является первым автором ни в одной из статей, опубликованных по теме диссертации, что вызывает вопросы о личном вкладе.

Указанные выше недочеты, судя по всему, имеют объяснение, и поэтому не являются принципиальными и не влияют на положительное заключение по диссертации.

Общее заключение.

Диссертационная работа Чекалина Евгения Витальевича «Влияние эпигенетических факторов на развитие иммуновоспалительных заболеваний кожи», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – «генетика» и 03.01.09 – «математическая

биология, биоинформатика», является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой.

Автореферат диссертации отвечает требованиям ВАК Минобрнауки России. Содержание автореферата диссертационной работы Е.В. Чекалина соответствует основным положениям 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 2013 г. с внесенными изменениями от 21 апреля 2016 г. № 335, предъявляемым к диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ему степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – «генетика» и 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Кандидат биологических наук, руководитель группы интерактомики протеоформ, старший научный сотрудник лаборатории анализа постгеномных данных Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»



Поверенная Екатерина
Владимировна

30 сентября 2019 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
119121, г. Москва, ул. Погодинская, д.10 стр.8,
Телефон: +7(499)246-37-31, E-mail: k.poverennaya@gmail.com

Подпись к.б.н. Поверенной Е.В. заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

кандидат химических наук

Карпова Елена Анатольевна

