

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Макаровой Екатерины Вадимовны, заведующего кафедрой пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на диссертационную работу Сахарнова Николая Александровича на тему «Анализ экспрессии генов основных участников сигнальных путей апоптоза и выживания в иммунокомпетентных клетках при ВЭБ и ВГЧ-6 инфекции» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Актуальность работы

Герпесвирусы ВЭБ (вирус Эпштейна-Барр) и ВГЧ-6 (вирус герпеса человека 6 типа) характеризуются повсеместным территориальным распространением и всеобщей восприимчивостью к ним мирового населения. Первичное инфицирование происходит в детском возрасте и сохраняется пожизненно. ВЭБ и ВГЧ-6 участвуют в этиологии многих заболеваний, тяжелое течение данных инфекций может привести к их хронизации, развитию вторичного иммунодефицита, нарушению клеточных реакций иммунитета, воспалительным и злокачественным заболеваниям. Клинические признаки ВЭБ и ВГЧ-6 инфекции во многом сходны, а их молекулярные механизмы патогенеза подробно не изучены, что создает препятствия при разработке специфических методов терапии и оценки риска развития тяжелых форм заболевания, также не разработаны вакцины против данных вирусов. Известно, что ВЭБ и ВГЧ-6 преимущественно лимфотропны, их основное патогенетическое действие направлено на модуляцию активности иммунокомпетентных клеток, в том числе на уровне сигнальных путей апоптоза и выживания. Элементы этих сигнальных путей характеризуются

высоким полиморфизмом, который обеспечивается за счет альтернативного сплайсинга. В связи с вышеизложенным, в рамках данной работы соискателем была решена актуальная задача по изучению экспрессии генов сигнальных путей апоптоза и выживания в лейкоцитах крови пациентов с ВЭБ и ВГЧ-6 инфекцией.

Научная новизна работы

Научная новизна данного исследования заключается в том, что автором с помощью ДНК микрочипов был успешно реализован комплексный анализ экспрессии 483 исследуемых генов и транскриптов в лейкоцитах крови пациентов с ВЭБ и ВГЧ-6 инфекцией. По сравнению со здоровыми донорами было обнаружено изменение экспрессии 35 генов и транскриптов при ВЭБ инфекции и 39 – при ВГЧ-6 инфекции. Также были выявлены корреляции между уровнями экспрессии этих генов и транскриптов и содержанием субпопуляций лимфоцитов (цитотоксических Т-клеток, Т-хелперов, дубль-позитивных Т-клеток, В-клеток и НК-клеток). Впервые был предложен набор маркерных генов и транскриптов (BIM/BCL2L11, IAP-2/BIRC3, SF1-NM_201995, XIAP-NM_001167, CELF6), уровни экспрессии которых изменялись при тяжелой форме течения ВЭБ инфекции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты данной работы позволяют более глубоко раскрыть молекулярные механизмы патогенеза ВЭБ и ВГЧ-6 инфекции, что имеет несомненную теоретическую значимость.

Практическое значение результатов исследования состоит в возможности их использования для разработки новых методов оценки риска развития тяжелых форм ВЭБ инфекции.

Достоверность полученных результатов

и обоснованность научных положений и выводов

Достоверность результатов диссертационной работы основывается на достаточном объеме использованных клинико-лабораторных данных и

применении адекватных и современных инструментальных и статистических методов исследования. В работе использовали методы ПЦР в реальном времени, проточной цитофлуориметрии, ДНК микрочипов. Полученные данные по экспрессии генов и транскриптов анализировали с помощью Т критерия с поправкой на ожидаемую долю ложных отклонений (FDR/False discovery rate test), корреляционные взаимосвязи рассчитывали с помощью критерия Уилкса, выявление маркеров тяжелой формы течения ВЭБ инфекции выявляли с использованием собственного алгоритма MIDA (Microarray Data Analysis).

Научные положения и выводы логично основываются на полученных результатах и соответствуют цели и задачам исследования.

По результатам рецензируемой работы автором было опубликовано 12 научных работ, из которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК по теме диссертации, а также зарегистрировано 4 патента РФ.

Структура, объем и содержание работы

Диссертация написана на 113 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Список литературы содержит 203 источника, в том числе 167 иностранных и 36 отечественных. Работа содержит 22 рисунка и 9 таблиц.

Во введении обосновывается актуальность темы исследования, сформулированы цели и задачи работы, приведены положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы, описываются современные данные о ВЭБ и ВГЧ-6 инфекции, молекулярных механизмах апоптоза и выживания клеток и их регуляции на уровне транскрипции, а также применении технологии ДНК-микрочипов для анализа транскриптома.

Глава материалов и методов содержит характеристику образцов и групп исследования, а также описание используемых в работе методов, технологий и алгоритмов обработки данных.

В главе «Результаты» последовательно и подробно описаны результаты диссертационного исследования, иллюстрированные многочисленными рисунками и таблицами.

В главе «Обсуждение» проведен глубокий структурированный анализ и обобщение полученных результатов с привлечением большого количества литературных данных. Приведенные в разделе схемы корректно отражают результаты исследования и значительно способствуют их пониманию. Отдельные полученные в ходе диссертационной работы данные находят подтверждение в литературе.

Выводы диссертационного исследования в полной мере соответствуют поставленным цели и задачам и обоснованы полученными результатами.

В автореферате корректно изложено содержание диссертационного исследования.

По структуре и содержанию данного исследования критических замечаний нет. Работа написана грамотно, достаточно подробно и последовательно.

Вместе с тем возникает ряд вопросов уточняющего характера:

- Чем обусловлен выбор данного контингента обследованных лиц (дети школьного возраста)?
- На основании каких критериев определялась степень тяжести заболевания?
- Какое значение выявленные маркерные гены и транскрипты могут иметь в онкогенезе ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразований?

Высказанные вопросы являются дискуссионными и не снижают научной значимости работы.

Заключение

Диссертационная работа Н.А. Сахарнова «Анализ экспрессии генов основных участников сигнальных путей апоптоза и выживания в

иммунокомпетентных клетках при ВЭБ и ВГЧ-6 инфекции» является законченным квалификационным научным трудом, в котором содержится решение актуальной научной задачи по углубленному изучению экспрессии широкого ряда генов и транскриптов сигналинга апоптоза и выживания в лейкоцитах крови пациентов с ВЭБ и ВГЧ-6 инфекцией, что имеет важное значение для специальности 14.03.09 – клиническая аллергология, иммунология, а также полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (14.01.04 – внутренние болезни), доцент

Макарова

Екатерина Вадимовна Макарова

Адрес: 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1

Телефон: +7 (831) 422 1290; +7 909 290 8604

e-mail: makarova_e@pimunn.net

