

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Лопаткиной Марии Евгеньевны
«Распространенность и транскриптомные эффекты хромосомных
микроделений и микродупликаций, затрагивающих ген *CNTN6*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 1.5.7 – Генетика**

Обширная группа хромосомных болезней, обусловленных нарушением числа или структуры хромосом, и характеризующиеся врожденными пороками развития и сопровождающихся интеллектуальными нарушениями, расстройствами аутистического спектра, эпилепсией, нарушениями обменных процессов представляют большую социальную, медицинскую, диагностическую и научную проблему. Сегодня разработаны и доступны полногеномные диагностические технологии выявления генетических дефектов при задержке интеллектуального развития, которые позволяют выявлять большое число субмикроскопических aberrаций, или вариаций в числе копий участков ДНК (CNV). Однако при выявлении CNV у пациента, интерпретация клинической значимости и оценка гено-фенотипических корреляций зачастую осложняется в силу ограниченности имеющихся научных знаний и представлений о патогенетике. В последние годы на основе технологий репрограммирования соматических клеток активно создаются модельные системы на основе нейронов, дифференцированных из ИПСК пациентов с нейродегенеративными заболеваниями и психическими расстройствами. Работы по изучению механизмов развития таких заболеваний ведутся как в зарубежных, так и отечественных лабораториях. В последние годы опубликовано несколько работ, посвященных изучению механизмов реализации патологического эффекта хромосомной мутации при проведении транскриптомного анализа в модельных системах нейронов, дифференцированных из ИПСК. При этом в настоящее время нет экспериментальных работ и отсутствуют данные об особенностях генной экспрессии в нейронах с реципрокными моногенными CNV, представленными разнонаправленными изменениями в числе копий одного и того же хромосомного региона.

В силу этого, диссертационная работа Лопаткиной Марии Евгеньевны, посвященная оценке распространенности CNV, затрагивающих ген *CNTN6*, и ха-

рактеристике молекулярных эффектов вариабельности числа копий *CNTN6* в нейронах на транскриптомном уровне, является своевременным и весьма актуальным исследованием.

В диссертационной работе Лопаткиной Марии Евгеньевны в рамках многоэтапной схемы обследовано 1070 пациентов с умственной отсталостью, 86 пациентов, страдающих шизофренией, и 20 здоровых индивидов. С использованием технологий клеточного репрограммирования и методов редактирования генома впервые получены пациент-специфичные ИПСК от индивидов с интеллектуальными расстройствами и уникальными реципрокными хромосомными мутациями в субсегменте 3p26.3, ИПСК от условно здорового индивида, являющегося носителем микродупликации *CNTN6*, и линия ИПСК с функциональной нуллисомией по данному гену.

Лопаткиной М.Е. показано, что в группе пациентов с нарушением нервно-психического развития частота хромосомных микроделеций и микродупликаций, затрагивающих ген *CNTN6*, составляет 1:711. При этом среди клинически здоровых носителей вариаций в числе копий гена *CNTN6*, по сравнению с пациентами с нарушениями нервно-психического развития, отмечается статистически значимое преобладание хромосомных микродупликаций 3p26.3. Впервые в модельной системе нейронов, дифференцированных из ИПСК с различным числом копий *CNTN6*, для клеток с дупликацией доказано изменение экспрессии 3522 генов (384 гипер- и 3138 гипоекспрессирующихся генов), для клеток с делецией – 1141 гена (338 гипер- и 803 гипоекспрессирующихся гена), для клеток с нокаутом гена *CNTN6* – 217 генов (49 гипер- и 168 гипоекспрессирующихся генов), по сравнению с клетками без хромосомной мутации. В ходе проведенного исследования в нейронах, дифференцированных из ИПСК, в зависимости от числа копий *CNTN6* выявлено 8 категорий транскриптомных эффектов, соответствующих U-образной, аддитивной и доминантной теоретическим моделям фенотипических проявлений реципрокных моногенных CNV. Показано, что среди общих дифференциально экспрессирующихся генов, выявленных в нейронах с микроделецией и микродупликацией *CNTN6*, 83% генов снижают свою экспрессию.

Автором доказано, что гены со сниженной относительно нормы экспрессией в нейронах, дифференцированных из ИПСК с микроделецией, микродуп-

ликацией и нокаутом гена *CNTN6*, кодируют продукты, вовлеченные в нейрогенез и синаптическую передачу ($P_{FDR} < 0,05$). При этом в нейронах, полученных из ИПСК пациента с интеллектуальными нарушениями и микродупликацией *CNTN6*, выявлено снижение транскрипции подавляющего числа дифференциально экспрессирующихся генов (89 %), по сравнению с клетками без хромосомной мутации, тогда как в нейронах, полученных из ИПСК его отца – носителя микродупликации без фенотипических проявлений, снижение экспрессии затронуло 43 % генов ($p < 0,001$).

На основании результатов проведенного научного исследования автором разработана новая медицинская технология «Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики микроструктурных хромосомных aberrаций в сегменте 3p26.3 у детей с недифференцированной умственной отсталостью», внедренная в практическую работу Томского Медико-генетического центра.

В целом, работа выполнена на высоком методическом уровне, с использованием современных молекулярно-генетических и цитогенетических технологий, методов биоинформационного и статистического анализа, адекватных поставленным задачам. Автором успешно решены все поставленные в работе задачи. Автореферат написан доступно, содержит таблицы и рисунки подробно и наглядно иллюстрирующие результаты исследования. Автореферат полностью отражает основные аспекты выполненной диссертационной работы, по результатам которой опубликована 19 научных работ, среди которых 7 статей в журналах, удовлетворяющих требованиям ВАК МОН РФ для соискателей ученой степени кандидата наук. Автором зарегистрирована база данных «Клинические и молекулярно-генетические характеристики больных шизофренией» (№ 2020621448). Результаты исследования были должным образом представлены в виде устных и постерных докладов, всесторонне обсуждены на различных Российских и зарубежных научных форумах. Сделанные автором выводы логичны, аргументированы, корректны и обоснованы результатами собственного исследования и проведенного анализа.

Таким образом, анализ автореферата позволяет утверждать, что диссертационная работа Лопаткиной Марии Евгеньевны «Распространенность и транскриптомные эффекты хромосомных микроделений и микродупликаций, затрагивающих ген *CNTN6*» является успешно проведенным научно-

квалификационным исследованием, направленным на решение актуальной научной задачи, имеет фундаментальное и большое практическое значение для медицинской генетики, неврологии, существенно расширяет знания о молекулярных механизмах реализации патологического эффекта реципрокных хромосомных aberrаций и дает новые представления о патогенетических механизмах нарушения психического здоровья и развития нейродегенеративных заболеваний, полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 - Генетика.

Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных в работе диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Заведующий областной научно-практической лабораторией
ДНК-диагностики государственного бюджетного учреждения
здравоохранения Новосибирской области
«Городская клиническая больница №1»,
Заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации,
кандидат медицинских наук, чл.-корр. РАЕН
e-mail: mab2000@mail.ru

Масленников
Аркадий Борисович

Данные об организации:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница №1»
630047, Новосибирск, Залесского д.6
Тел./факс: 8-383-226-07-02
Сайт: <http://www.gkb1nsk.ru/>
e-mail: gkb1@ngs.ru

Подпись Масленникова Аркадия Борисовича заверяю
Начальник отдела кадров
ГБУЗ НСО «ГКБ №1»
«27» сентября 2022 г.



А.О. Драгунова