



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
(ИМБ РАН)**

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: isinfo@imb.ru
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

27.10.2023 № 12312-2171

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук доктор биологических наук

Иванов Александр Владимирович

« 27 » октября 2023 г.



**Отзыв ведущей организации
на диссертационную работу Юджина Дмитрия Владимировича «Молекулярно-биологические основы синдрома ломкой X-хромосомы», представленную на соискание
ученой степени доктора биологических наук по специальности
1.5.3. – молекулярная биология**

Актуальность темы исследования и ее связь с планами отраслевой науки

Заболевания, ассоциированные с ломкой X-хромосомой, вызваны мутацией – экспансией повторов в промоторной области гена *FMRI*. В зависимости от размера повтора различают несколько аллелей, в том числе полную мутацию, которая приводит к развитию синдрома ломкой X-хромосомы. Данный синдром, также называемый синдромом Мартина-Белл, является наиболее распространенной формой наследственной умственной отсталости у человека после синдрома Дауна. В настоящее время данная патология не излечима, применяется лишь симптоматическая терапия. Учитывая распространенность заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, и сложность механизмов их развития, цели и задачи диссертационной работы Д.В. Юджина являются крайне актуальными.

Диссертационная работа Д.В. Юдкина выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы, проводимой в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором впервые представлены данные о различиях степени соматической экспансии повтора CGG у модельных мышей и ее зависимости от возраста животного. Предложена оптимизированная схема расчёта индекса соматической нестабильности повтора CGG, которая не зависит от эффективности амплификации различных аллелей гена *FMR1*. Автором разработан молекулярно-цитогенетический подход для визуализации ломкого сайта FRAXA в гене *FMR1*, выявлены паттерны локализаций зондов, которые характерны для нормальных и патологических аллелей. С использованием этого подхода проведен анализ X-хромосом пациентов с подозрением на синдром ломкой X-хромосомы. В диссертационной работе исследованы причины образования ломкого сайта FRAXA, выявлена недорепликация увеличенного участка. На основе полученных данных впервые предложена модель образования ломкого сайта FRAXA. Автором впервые исследовано влияние ромидепсина и вориностата – ингибиторов деацетилаз гистонов, на экспрессию гена *FMR1* в культуре клеток человека.

Фундаментальное значение результатов, полученных в диссертационной работе Д.В. Юдкина, заключается в их значительном вкладе в комплексное представление о механизмах развития заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, а также о путях их диагностики и терапии. Таким образом, научная новизна представленной работы несомненна.

Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов

Работа Юдкина Д.В. имеет важное практическое значение. Подход для визуализации ломкого сайта FRAXA уже успешно используется для диагностики пациентов с подозрением на синдром ломкой X-хромосомы. Метод оказался очень удобным для многих медико-генетических консультаций в связи с тем, что амплификация увеличенного CGG повтора крайне затруднена и не во всех случаях возможна, а цитогенетические методы более доступны и применяются во многих учреждениях здравоохранения.

Разработанный метод расчёта индекса соматической нестабильности повтора CGG может быть использован в медико-генетическом консультировании для прогноза развития заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой.

Результаты, полученные при исследовании влияния ингибиторов деацетилаз гистонов на реактивацию гена *FMR1*, вносят вклад в разработку методов лечения заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и заключений

Достоверность представленных в диссертации Д.В. Юджина результатов обеспечена применением самых современных и адекватных задач методик, правильным выбором модельных объектов, большим объемом полученных данных и их детальным анализом. Цель и задачи исследования сформулированы четко и соответствуют названию и профилю диссертации.

Выводы, представленные в работе, корректны и соответствуют полученным результатам. Положения, выносимые на защиту, сформулированы убедительно и отражены в соответствующих главах. Обсуждение полученных результатов детальное и выполнено на основе современных представлений об экспансионных заболеваниях. В обзоре литературы и обсуждении результатов использована современная и актуальная научная литература.

Материалы диссертационной работы представлены на многочисленных российских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 20 научных статей в журналах из перечня ВАК.

Общая оценка работы.

Диссертация представлена на 249 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, 4 главы, посвященных результатам и их обсуждению, заключение, выводы, список литературы и приложения. Диссертация содержит 38 рисунков и 8 таблиц. Список цитируемой литературы включает 466 источников.

Введение к диссертационной работе соответствует требованиям ВАК. В нем представлено обоснование актуальности работы, которая не вызывает сомнений. Из актуальности логично следуют цель и задачи. Во введении представлена новизна, теоретическая и практическая значимость исследования. Также тут представлены «основные положения, выносимые на защиту». Они полностью соответствуют выводам, представленным в конце диссертации, и подтверждаются списком публикаций из 20 статей. Во введении приводится информация о вкладе автора в работу и апробации результатов на российских и международных конференциях.

В главе 1 представлен очень подробный обзор литературы. Автор провел анализ публикаций по направлению исследований с 1943 по 2022 год. В обзоре литературы описаны молекулярные механизмы развития заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, и их клинические проявления. Также, в этом разделе рассмотрены различные аспекты и механизмы

гетерохроматинизации локуса *FMRI*, и влияние микроРНК и RAN-трансляции на патогенез фраксопатий. Очень подробно описаны вероятные механизмы соматической нестабильности повторов и ломкости хромосом. Большой раздел посвящен методам диагностики и терапии заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой.

Глава 2 «Материалы и методы» представлена на 22 страницах и подробно описывает все, использованные в диссертации, экспериментальные процедуры. В начале раздела приведена информация об использованных моделях: лабораторных мышцах и клеточных линиях. Далее автор дает исчерпывающую информацию о широком спектре использованных в работе методов и подходов. Описание методик соответствует общепринятым нормам. Все использованные методы и подходы адекватны целям и задачам работы.

В Главе 3 автор описывает результаты исследования соматической нестабильности повтора CGG как на примере модельных объектов, так и у пациентов с заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой. Здесь же приводится метод количественной оценки соматической нестабильности – индекс соматической нестабильности и анализ взаимосвязи этого критерия с изменениями на уровне головного мозга у пациентов.

В главе 4 приводится описание разработки метода молекулярно-цитогенетической визуализации ломкого сайта FRAXA. В этой же главе подробно описан пример использования такого подхода для диагностики и выявления ломкого сайта FRAXA при исследовании клинического семейного случая умственной отсталости, сопряженной с ломкой X-хромосомой.

В Главе 5 представлена схема образования ломкого сайта FRAXA, которая основана на недорепликации увеличенного повтора CGG при вхождении клетки в митоз.

В Главе 6 приведены результаты исследования влияния ромидепсина и вориностата на экспрессию гена *FMRI*.

В разделе Заключение приводится общий анализ полученных результатов.

В целом, представленная работа изложена логично и последовательно. Рисунки полностью отражают полученные результаты и позволяют оценить их достоверность. Выводы однозначно обоснованы, четко сформулированы и соответствуют результатам экспериментов.

Замечания к диссертационной работе

Замечаний по представленной работе немного. В тексте имеется небольшое количество опечаток. В Главе 1 на стр. 57 во 2 строке снизу написано «с разрешением в несколько хромосомных бэндов, т.е. несколько м.п.н. (Mrasek et al., 2010).» Следует указать, какие бэнды имеет ввиду автор источника, и при каком разрешении G-бэндов на кариотип приведена цитата. В

Главе 2 Материалы и методы на стр. 99 в первом абзаце сверху нужно уточнить, в каких единицах вычисляется митотический индекс. В Главе 4 на стр. 142 в последней строке несогласование: «четкий сигнал двух зондов на двух хроматидах», тогда как по смыслу необходимо «при этом виден четкий сигнал двух зондов на второй хроматиде». В таблицу 5 на стр. 147 не внесены результаты статистической обработки, хотя на стр. 148 при описании достоверности отличий есть ссылка на эту таблицу. В таблице 6 не указана концентрация 5-фтордезоксисуридина, и в каких единицах указан митотический индекс.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации полностью отражает ее содержание, включает все основные разделы, текст четко структурирован, результаты проведенных исследований хорошо проиллюстрированы.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

Основные результаты, изложенные в диссертации, представлены в 20 публикациях в рецензируемых изданиях, соответствующих требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Заключение.

Диссертационная работа Юдкина Дмитрия Владимировича «Молекулярно-биологические основы синдрома ломкой X-хромосомы», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3. – молекулярная биология, является законченной научной работой, в которой проведено комплексное исследование молекулярных механизмов патогенеза синдрома ломкой X-хромосомы с использованием самых современных подходов.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, а также методологическому и методическому уровню полученных результатов рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует критериям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре Лаборатории молекулярной кариологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук.

Семинар прошел 25.10. 2023 (протокол № 10-23).

Сведения о составителе отзыва:

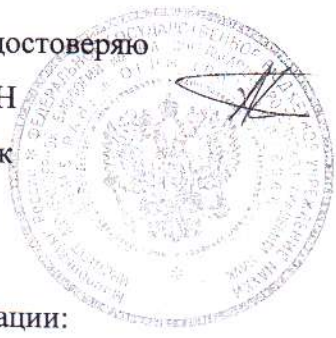
Муравенко Ольга Викторовна, доктор биологических наук по специальностям 03.01.03 – «Молекулярная биология» и 03.02.07 – «Генетика», профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной кариологии ИМБ РАН

Электронная почта: omur@eimb.ru

Подпись Муравенко О.В. удостоверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН

кандидат ветеринарных наук



Бочаров Александр Анатольевич

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Почтовый адрес: ГСП-1, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН.

Тел .: +7(499) 135-23-11, +7(499) 135-11-60

Адрес официального сайта: <https://www.eimb.ru/>

Электронная почта: isinfo@eimb.ru