

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.016.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 24.09.2018 № __ 9 __

О присуждении Честкову Илье Валерьевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация: **«Исследование вариабельности числа копий рРНК-кодирующих генов и митохондриальной ДНК в геноме пациентов с шизофренией»** по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 30.05.2018 г., протокол № __6__ диссертационным советом Д 001.016.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр» (115522, город Москва, улица Москворечье, дом 1; сайт организации: <http://www.med-gen.ru/>). Создание Диссертационного совета утверждено решением президиума ВАК МОН РФ № 937-608 от 16 мая 2008 года. Совет переутвержден 11 апреля 2012 года приказ № 105/нк.

Соискатель - Честков Илья Валерьевич, 1988 года рождения, в 2014 году окончил Биологический факультет Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «Биохимия». В 2014 году окончил обучение в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук.

Работает в должности научного сотрудника лаборатории Молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр».

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Медико-генетический научный центр».

Научный руководитель - доктор биологических наук Костюк Светлана Викторовна, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», заведующая лабораторией Молекулярной биологии.

Официальные оппоненты:

1. **Лившиц Виталий Аркадьевич**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник закрытого акционерного общества «Научно-исследовательский институт «Аджиномото-генетика» (ЗАО «АГРИ»).
2. **Маслов Дмитрий Антонович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Отзыв Лившиц В.А. содержит следующие замечания:

«Отдельно представлены механизмы поддержания и изменения числа копий генов рРНК в популяции дрожжей, на наш взгляд, не очень относящиеся к теме.»

«К недостаткам этой главы можно отнести ряд не совпадающих в разных частях изложения значений частот заболевания шизофренией и ее наследуемости, неадекватное и неоправданное в ряде случаев использование иностранных терминов («арест клеточного деления»), неверный перевод термина «ядра dorsal raphe nucleus» как «ядра клеток спинного мозга», не выправленные опечатки.»

В заключении отмечено, что «Диссертационная работа Ильи Валерьевича Честкова на тему: «Исследование вариативности числа копий рРНК-кодирующих генов и митохондриальной ДНК в геноме пациентов с шизофренией» является законченной научно-квалификационной работой, посвящена актуальной теме вариативных последовательностей в геноме человека, предлагает решения ряда вопросов и противоречий, существующих

в данной области науки, и имеет потенциальное практическое значение для медицинской генетики. Работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Честков Илья Валерьевич заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).»

Отзыв Маслова Д.А. содержит следующее замечание и вопрос:

«В главе «Материалы и методы» описаны методы исследования, которые были применены для анализа числа копий генов рРНК и мтДНК в геноме пациентов. Применяемые в работе методы позволяют в полной мере решить поставленные цель и задачи. Подробное описание методов позволяет применить их в других исследованиях. Единственный недостаток данного раздела состоит в том, что наблюдается дефицит литературных ссылок, хотя, вероятно, не все методы были разработаны автором с чистого листа.»

«Значимость и достоверность полученных Ильей Валерьевичем результатов не вызывает никаких сомнений, однако есть один вопрос скорее дискуссионного характера: насколько, по мнению автора, полученные результаты могут быть использованы для ранней диагностики и профилактики шизофрении на ранней стадии?»

В заключении отзыва «Диссертационная работа Честкова Ильи Валерьевича на тему «Исследование вариабельности числа копий рРНК-кодирующих генов и митохондриальной ДНК в геноме пациентов с шизофренией» выполнена для решения актуальной научной задачи, имеет теоретическую и практическую значимость для медицинской генетики. Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением

Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а Честков Илья Валерьевич безусловно заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.»

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина», город Москва, в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук Умрюхиным Павлом Евгеньевичем, старшим научным сотрудником лаборатории Системных механизмов эмоционального стресса Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина», указала, что диссертационная работа Честкова Ильи Валерьевича на тему: «Исследование варибельности числа копий рРНК-кодирующих генов и митохондриальной ДНК в геноме пациентов с шизофренией», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук является завершенным научным трудом, посвященным актуальной теме современной медицинской генетики и вносящим вклад в решение актуальной проблемы генетики. Представленные в работе результаты имеют важное научное и практическое значение для понимания механизмов развития нарушений психических функций и генетики. По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости работы, степени достоверности результатов, количеству публикаций, обоснованности выводов в соответствии с поставленными целью и задачами диссертационная работа Ильи Валерьевича Честкова соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства

РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Диссертация рассмотрена и одобрена на совместном заседании лаборатории системных механизмов эмоционального стресса, лаборатории функциональной нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина» и кафедры нормальной физиологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Протокол №6 от 20 июня 2018 г.).

Соискатель имеет 39 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 9 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях 4 работы.

Публикации посвящены анализу переменных по числу копий последовательностей генома человека – генов рРНК и мтДНК. В работах проведено сравнение методов количественного определения этих последовательностей ДНК, подробно описан метод нерадиоактивной количественной гибридизации и его преимущества по сравнению с методом ПЦР в реальном времени; проведено сравнение числа копий генов рРНК и мтДНК в клетках крови пациентов с шизофренией и контрольной группы людей; определен уровень повреждения генов рРНК и мтДНК в клетках крови пациентов с шизофренией и контрольной группы людей. Автором лично проведены все экспериментальные этапы: формирование коллекции образцов ДНК двух групп пациентов, определение их концентрации, сравнение методов нерадиоактивной количественной гибридизации и ПЦР в реальном времени на экспериментальных образцах ДНК, определение числа копий рРНК-кодирующих генов и мтДНК в образцах ДНК пациентов с шизофренией и контрольной группы двумя методами. Автор принимал

непосредственное участие в обработке и анализе всех полученных данных и написании публикаций. Все основные результаты, представленные на защиту, полностью опубликованы в виде статей в рецензируемых научных журналах и тезисов докладов в сборниках научных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Chestkov I.V., Jestkova E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Kolesina N.Y., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Izhevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Abundance of ribosomal RNA gene copies in the genomes of schizophrenia patients // Schizophrenia Research. 2018 - S0920-9964(18)30001-X.

2. Chestkov I.V., Jestkova E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Kolesina N.Y., Dolgikh O.A., Izevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V., Kostyuk G. Ros-induced DNA Damage Associates With Abundance of Mitochondrial DNA in Blood White Cells of the Untreated Schizophrenic Patients // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018 - Vol. 2018 - 7 pages.

3. Ershova E.S., Jestkova E.M., Chestkov I.V., Porokhovnik L.N., Izevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Shmarina G., Dolgikh O., Kostyuk S.V. Quantification of cell-free DNA in blood plasma and DNA damage degree in lymphocytes to evaluate dysregulation of apoptosis in schizophrenia patients // Journal of Psychiatric Research. 2017 - Vol. 87 - P.15-22.

4. Честков И.В., Вейко Н.Н., Ершова Е.С., Сергеева В.А., Вейко Р.В., Ижевская В.Л., Костюк С.В. Метод анализа числа копий GC-богатых повторяющихся последовательностей генома в составе поврежденной ДНК. Определение увеличенного содержания рибосомных генов в циркулирующей внеклеточной ДНК лиц с длительным стажем курения табака // Медицинская генетика. 2016 - №15 - С.43-49.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв доктора медицинских наук, заведующего кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного

медицинского университета имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) Умрюхина Алексея Евгеньевича. Отзыв положительный, без замечаний.

Отзыв кандидата медицинских наук, заместителя главного врача по медицинской части Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Психиатрическая клиническая больница №1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы» Савельева Дмитрия Вадимовича. Отзыв положительный, замечаний нет.

Отзыв кандидата биологических наук, заведующего лабораторией Систем экспрессии генов Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт – ГосНИИГенетика») Козлова Дмитрия Георгиевича. Отзыв положительный, замечаний нет.

Отзыв доктора химических наук, ведущего научного сотрудника химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Долинной Нины Германовны. Отзыв положительный, замечаний нет.

Отзыв доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Долинной Нины Германовны. Отзыв положительный, замечаний нет.

Отзыв доктора биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории клинической онкогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России Поспеховой Натальи Ивановны. Отзыв положительный, без замечаний.

Отзыв кандидата биологических наук, научного сотрудника лаборатории цитогенетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского научно-исследовательского медицинского центра Кашеваровой Анны Александровны. Отзыв положительный. В отзыве есть вопросы: «Автор делит обследуемых индивидов на группы по полу и показывает, что в лейкоцитах крови здоровых мужчин содержится меньше копий мтДНК, чем в лейкоцитах крови женщин, в то время как у больных шизофренией наблюдается обратная картина. Как можно объяснить наблюдаемое явление? Кроме того, каким механизмом автор может объяснить положительную корреляцию между числом копий мтДНК и рДНК?».

В отзывах подробно изложена актуальность диссертационной работы, новизна полученных результатов, значимость результатов для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа является законченным научным исследованием, выполнена на высоком научном и методологическом уровне. Достоверность полученных в исследовании результатов, научных положений и выводов подтверждается статистическими методами и не вызывает сомнений.

Выбор ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина» является ведущим научно-исследовательским учреждением России, в котором исследуются вопросы физиологических основ эмоционального стресса, молекулярно-генетические механизмы системной организации физиологических функций, поведения. Сотрудники института публикуют свои работы в ведущих российских и зарубежных научных журналах.

Выбор оппонентов:

Лившиц Виталий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник закрытого акционерного общества

«Научно-исследовательский институт «Аджиномото-генетика» (ЗАО «АГРИ»).

Доктор биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Лившиц В.А. является высококвалифицированным специалистом в области генетики, автор более 80 научных статей в российских и зарубежных журналах.

Маслов Дмитрий Антонович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук.

Кандидат биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Маслов Д.А. работает в различных направлениях прикладной генетики, имеет значительный опыт в этой области и высококвалифицированный специалист. Автор научных статей в российских и зарубежных журналах, регулярно выступает с докладами на международных конференциях по генетики.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методика сравнительного анализа числа копий высокоповторяющихся последовательностей в геноме человека и уровня их повреждения. Применение методики позволяет выявить увеличение числа копий генов рРНК и мтДНК в геноме пациентов с шизофренией, значительное повреждение генов 28S рРНК при психотическом расстройстве, уменьшение общего числа копий мтДНК и увеличение числа поврежденных копий мтДНК в клетках крови пациентов с шизофренией при терапии антипсихотическими препаратами до уровня людей контрольной группы, снижение уровня повреждения генов 28S рРНК при терапии антипсихотическими препаратами пациентов с шизофренией.

предложена научная гипотеза развития окислительного стресса в организме пациентов с шизофренией, которая отражается в изменении

копийности мтДНК и повреждении копий генов рРНК. Показано, что терапия антипсихотическими препаратами приводит к снижению числа копий мтДНК, с одновременным увеличением количества поврежденных копий, и снижением числа поврежденных копий генов рРНК.

доказано увеличение числа копий генов рРНК и мтДНК в клетках крови пациентов с шизофренией, снижение числа копий мтДНК после терапии антипсихотическими препаратами, наличие положительной корреляции между числом копий генов рРНК и мтДНК в геноме человека.

введены новые научные данные об изменении числа копий мтДНК при развитии окислительного стресса в организме человека при шизофрении, усовершенствованы и уточнены методы исследования высокоповторяющихся последовательностей ДНК.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Доказаны структурные изменения последовательности 45S рДНК в клетках крови пациентов с шизофренией. Степень повреждения копий 45S рДНК в клетках крови нелеченных пациентов с шизофренией выше, чем в контрольной группе. Прием нейрорепарантов способствует снижению числа копий мтДНК в лейкоцитах при шизофрении до уровня копийности мтДНК в контрольной группе людей.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов)

использован комплекс разнообразных методов молекулярной генетики, сравнительный анализ числа копий генов рРНК и мтДНК методами нерадиоактивной количественной гибридизации и ПЦР в реальном времени для определения уровня повреждения исследуемых последовательностей генома;

изложены идеи развития окислительного стресса в организме пациентов с шизофренией и гипотетической роли генов рРНК в развитии психотического расстройства;

раскрыты закономерности действия окислительного стресса в организме пациентов с шизофренией, которые отражают изменение числа копий мтДНК в клетках крови пациентов до лечения антипсихотическими препаратами и после;

изучены вариации числа копий генов рРНК и мтДНК в клетках крови пациентов с шизофренией и контрольной группы здоровых индивидов, связи развития психотического расстройства в организме больных шизофренией с хроническим окислительным стрессом;

проведена модернизация методологических подходов к исследованию высокоповторяющихся последовательностей в геноме человека при шизофрении.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана и внедрена новая методика, которая позволяет анализировать уровень повреждения повторяющихся фрагментов генома человека с использованием сравнительного анализа данных, полученных методами нерадиоактивной количественной гибридизации и ПЦР в реальном времени. Методика внедрена в практику Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»;

определены перспективы практического использования числа копий генов рРНК в качестве диагностического маркера шизофрении и копийности мтДНК для прогнозирования результатов лечения пациентов фармакологическими препаратами антипсихотического действия;

создана модель развития окислительного стресса в организме пациентов с шизофренией и ятрогенного эффекта антипсихотических препаратов на изменение числа копий мтДНК;

представлены методические рекомендации для определения числа копий высокоповторяющихся последовательностей в геноме человека и анализа уровня их повреждения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ – результаты получены на большой выборке пациентов (179 пациентов с шизофренией и 122 человека в контрольной группе) с применением комплекса современных молекулярно-генетических методов. Экспериментальная работа выполнена на сертифицированном лабораторном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования;

теория работы построена на ранее опубликованных идеях о возможности изменения уровня трансляционной активности в клетках пациентов с шизофренией и хроническом окислительном стрессе в организме при шизофрении;

идея базируется на способности клеток организма пациентов с шизофренией адаптироваться к условиям хронического окислительного стресса;

использованы данные научной литературы об исследованиях вариативных последовательностей в геноме пациентов с шизофренией, окислительном стрессе, структуры и вариации числа копий генов рРНК и мтДНК, методы молекулярно-генетического исследования;

установлено качественное подтверждение увеличения числа копий генов рРНК в геноме пациентов с шизофренией при значительном увеличении выборки пациентов;

использованы современные методы статистической обработки исходной информации, исследования проведены на большой выборке пациентов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в разработке идеи, организации и проведении всех этапов исследования.

Сбор образцов крови пациентов с шизофренией и контрольной группы проводился в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр психического здоровья», Государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Психиатрическая больница №14 департамента здравоохранения города Москвы» и

Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Медико-генетический научный центр». Автором лично проведены все экспериментальные этапы: формирование коллекции образцов ДНК двух групп пациентов, определение концентрации ДНК, сравнение методов нерадиоактивной количественной гибридизации и ПЦР в реальном времени на экспериментальных образцах ДНК, определение числа копий рРНК-кодирующих генов и митохондриальной ДНК в образцах ДНК пациентов с шизофренией и контрольной группы двумя методами. Автором проведен анализ современной зарубежной и отечественной литературы по теме диссертации. Написание диссертационной работы, обсуждение результатов и формулировка выводов выполнены автором самостоятельно. Автор опубликовал результаты исследования в рецензируемых журналах и представил их на российских и зарубежных научных конференциях.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, соответствующей поставленным задачам методологической платформы, четкой связи выводов поставленным задачам, соответствием задач и выводов единой концепции исследования.

Диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени кандидата наук работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. На заседании 24 сентября 2018 года диссертационный совет принял решение присудить Честкову И.В. ученой степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 19 докторов наук (9 биологических и 10 докторов медицинских наук по специальности 03.02.07 – «генетика»), участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени 19, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета Д 001.016.01

д.б.н, профессор, Академик РАН

Гинтер Евгений Константинович

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 001.016.01,

д.м.н, профессор

Зинченко Рена Абульфазовна



МП

24.09.2018 г.