

## ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Данильченко Валерии Юрьевны «Анализ генетического контроля наследственной потери слуха в популяциях ряда регионов Сибири», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – «генетика».

10 ноября 2022 г.

**Актуальность** Изучение молекулярных причин и распространенности моногенных заболеваний является одной из актуальных проблем генетики. Потеря слуха, являясь моногенным заболеванием, обладает экстремальной генетической гетерогенностью: в настоящее время описано более 160 генетических локусов, не менее 120 ядерных генов и ряд вариантов в митохондриальной ДНК, которые ассоциированы с потерей слуха. Наибольший вклад в этиологию потери слуха в различных регионах мира вносят патогенетические варианты в гене *GJB2*, а вторым по значимости является ген *SLC26A4*. Существенно меньше данных о распространенности генетических форм потери слуха, определяемых патогенетическими вариантами других генов. Известна широкая этногеографическая вариабельность в распространенности различных форм наследуемой глухоты. Для многих «генов глухоты» известны патогенетические варианты, преобладающие в той или иной этнической группе или регионе, в то время как другие варианты могут встречаться лишь у единичных индивидов. Таким образом, большая генетическая гетерогенность и территориальная специфичность различных форм наследственной потери слуха затрудняет создание универсальной молекулярной диагностики данного заболевания.

Диссертационная работа Данильченко В.Ю. направлена на выявление молекулярно-генетических причин наследственной потери слуха у коренных жителей Республик Тыва и Алтай.

### Структура диссертации

Диссертационная работа Данильченко В.Ю. состоит из стандартных разделов: список сокращений, введения, трех глав («Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение»), заключения, выводов, списка литературы и приложений. Общий объем диссертации 145 страниц. Список цитированной литературы включает 284 источника.

**Введение** Во Введении Валерия Юрьевна обосновывает проблему, актуальность, описывает степень разработанности темы исследования, формулирует положения, выносимые на защиту, отражает новизну и значимость диссертационной работы. Цель и задачи сформулированы четко. Определен личный вклад автора, степень достоверности и апробация результатов, а также приведены основные публикации автора по теме диссертации.

**Обзор литературы** дает исчерпывающую информацию о проблеме исследования, охватывает различные аспекты, такие как генетическая гетерогенность заболевания, возможные современные методы диагностики данной патологии, информация

об уже известных причинах нарушения слуха в популяциях Сибири. Изложение четкое и логичное, большой объем цитированной литературы.

**Методы** . Выбор методов обоснован. Автором использовались классические молекулярно-генетические методы, такие как экстракция геномной ДНК, ПЦР, ПЦР-ПДРФ анализ, секвенирование по Сэнгеру, помимо этого, в работе был использован современный метод полноэкзомного секвенирования, а также фрагментный анализ для генотипирования STR- и SNP-маркёров. Для анализа данных применены адекватные статистические методы.

**Результаты и обсуждение** . Представление результатов структурировано, хорошо иллюстрировано. Глава включает четыре больших раздела, каждый из которых состоит из подразделов, в конце каждого раздела есть небольшое заключение.

В первой части автор приводит результаты, полученные при молекулярно-генетическом анализе гена *SLC26A4*. Выявлены различия патогенетического вклада этого гена в этиологию глухоты, определяемого вариантами с.919-2A→G, с.2027 T→A, с.1545T→G, с.2168A→G, с.170C→A, с.2034+1G→A, который составил 28.2% и 4.3% у тувинцев и алтайцев, соответственно. Стоит отметить находку нового варианта с.1545T→G гена *SLC26A4*, для которого удалось получить ряд доказательств его патогенетической значимости, а именно: 1) сегрегация этого варианта с глухотой в родословных пациентов, 2) значимое превышение его частоты в выборках пациентов по сравнению с контрольной выборкой слышащих индивидуумов, 3) результаты предсказательных программ. Еще одной интересной находкой является выявление высокой частоты сплайснгового варианта с.919-2A→G у тувинских пациентов – 69.3%, в то время как у алтайских пациентов этот вариант был обнаружен только у двух индивидуумов в гетерозиготном состоянии с другим вариантом этого гена.

Автором была предпринята попытка оценить «генетическое окружение» варианта с.919-2A→G. Для этого было проведено генотипирование STR- и SNP-маркёров, флакирующих вариант с.919-2A→G, и на основе этих данных реконструированы гаплотипы участка хромосомы 7, содержащих вариант с.919-2A→G у тувинских пациентов. В результате этой работы удалось выявить сходство «генетического окружения» варианта с.919-2A→G, что, в свою очередь, предполагает общность его происхождения («эффект основателя») у коренного населения Республики Тыва. Важным аспектом работы по гену *SLC26A4* является детальное исследование его последовательности методом секвенирования по Сэнгеру, что позволило выявить, помимо его патогенетических вариантов, ряд полиморфных вариантов, как уже известных, так и новых. Полученные данные значительно дополняют информацию об аллельном разнообразии гена *SLC26A4*.

Вторая часть главы уделена результатам, полученным при поиске новых генов, приводящих к потере слуха, при помощи полноэкзомного секвенирования. Было выявлено два новых патогенетических варианта в генах *OTOF* и *RAI1*, которые в гомозиготном состоянии являются причиной несиндромальной рецессивно наследуемой потери слуха у алтайских пациентов.

Ген *RAI1* кодирует транскрипционный фактор и автор приводит информацию, что ранее были описаны протяженные делеции и дупликация участка 17 хромосомы, включающего ген *RAI1*, а также некоторые точечные замены, которые приводят к двум разным синдромам: синдром Смита-Магениса и синдром

Потоцки-Лупски. Связь точковой замены с.5254G→A в гене *RAI1* с изолированной глухотой, впервые описанная в работе Данильченко В.Ю., делает этот ген делает интересным объектом для дальнейшего исследования генетических причин потери слуха. В результате проделанной работы был оценен вклад генов *OTOF* и *RAI1* в этиологию потери слуха у алтайских пациентов и составил 10.8% и 4.3%, соответственно, в выборке тувинских пациентов варианты в этих генах не были обнаружены.

В заключительной части подводится итог всей проделанной работы, в разделе приведена информация об обнаруженных вариантах в генах *GJB2*, *SLC26A4*, и информация об отдельных точечных вариантах в генах *RAI1*, *OTOF* и *MT-RNR1* (мтДНК). Посчитан суммарный вклад этих генов в этиологию потери слуха для тувинцев и алтайцев. Автор заключает, что молекулярно-генетический диагноз может быть установлен для значительной части обследованных пациентов, а именно: для 50.5% тувинцев и для 34.5% алтайцев. Результаты, полученные в работе, могут в дальнейшем применяться для создания регион-специфичной ДНК-диагностики потери слуха.

**Заключение** содержит краткое и емкое изложение всех полученных результатов. Выводы сформулированы корректно, соответствуют целям и задачам.

**Автореферат** . Текст автореферата соответствует содержанию диссертационной работы. По теме диссертации опубликовано 7 статей в журналах из перечня ВАК, 1 глава в монографии, а также 11 тезисов сообщений по теме работы, которые были представлены на международных и российских конференциях.

## Вопросы и замечания

1. В тексте диссертации встречаются случаи вольного использования терминов, в результате чего бывает сложно понять, что имеется в виду. Например "Так, для азиатских популяций (Китай, Япония, Корея, Монголия) наиболее частыми мутациями являются..."(стр.58 диссертации). Складывается впечатление, что Китай - одна популяция, что вряд ли верно. Не ясно, что автор подразумевает под "биоинформатическим анализом" и т.п.
2. Одним из ключевых параметров популяций является степень родства в исследуемых популяциях. Не смотря на это в диссертации часто и, на мой взгляд, не всегда оправдано используется предположение о "перодственных пациентах" даже в применении к выходцам из малочисленных и изолированных поселений. Не учитывается также вероятность ассортативного скрещивания пациентов с нарушениями слуха, которое может способствовать появлению различных аллелей *SLC26A4* и *GJB2*, вместе с тем приведенные данные позволяют оценить коэффициент инбридинга, который было бы интересно с коэффициентом инбридинга у здоровых членов сообщества.
3. В нескольких местах диссертации, например, при исследовании вопроса о функциональной значимости миссенс-варианта с.1545T→G (р.Phe515Leu) в гене *SLC26A4* (стр.69 диссертации) использование предсказательных программ свелось к перебору доступных без учета и обсуждения соответству-

ющих предположений и особенностей методов. Это снижает доказательную силу полученных выводов.

4. Считаю недостатком частое использование термина "биаллельные мутации" применительно только в узкой области медицинской генетики. Для того, чтобы несомненно интересные результаты были понятны вне этой области генетики предлагаю использовать в зависимости от ситуации либо "мутантные гомозиготы" либо "мутантные компаунды".
5. (рекомендация). В работе собран колоссальный фактический материал по популяционной генетике человека, однако я полагаю, что в целом этот материал требует более глубокого подробного обсуждения. В частности, на мой взгляд, совсем не затронутыми остались вопросы различий в возможном культурном аспекте различий в частоте мутантных компаундов у алтайцев и тувинцев, а также роль долговременных замкнутых и полужамкнутых сообществ у этих народов.

## Заключение

Таким образом, из вышесказанного можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Данильченко Валерии Юрьевны «Анализ генетического контроля наследственной потери слуха в популяциях ряда регионов Сибири», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным исследованием, которое выполнено на высоком научном и методическом уровне. По актуальности, новизне, степени обоснованности научных положений и выводов, а также по степени опубликованности основных результатов, эта диссертационная работа полностью отвечает всем требованиям п.9 – 11, 13 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции от 11.09.2021 г.), а ее автор, Данильченко Валерия Юрьевна, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «генетика».

д.б.н., заведующий лабораторией геносистематики  
Линнологического института СО РАН,  
664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская 3,  
тел. (3952) 42-29-23,  
Электронная почта: sherb@lin.irk.ru

Д.Ю.Щербаков

Подпись заведующего лабораторией, д.б.н. Щербакова Д.Ю. ЗАВЕРЯЮ.

Ученый секретарь ЛИИ СО РАН

к.б.н. Максимова Н.В.

