

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой нормальной и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Маркеловой Елены Владимировны на диссертационную работу Кинкулькиной Алии Ряшидовны на тему: «Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.001.34 на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.5. Офтальмология

Актуальность темы диссертационной работы

Глаукома является прогрессирующей оптической нейропатией, приводящей к дисфункции и селективной потере ганглиозных клеток сетчатки и является основной причиной снижения зрительных функций и слепоты. Это сложное полиэтиологическое заболевание, где повышенное внутриглазное давление является основным фактором риска. Показано, что механическое повреждение аксонов зрительного нерва, окислительный стресс и гипоксия способствуют патогенезу глаукомы, вызывая митохондриальную дисфункцию в ганглиозных клетках сетчатки, активацию глиии и нейровоспаление. Не смотря на имеющиеся данные, остаются не до конца изученными вопросы этиопатогенеза и факторов риска, обуславливающие тяжесть заболевания и скорость его прогрессирования.

Научно-квалификационная работа Кинкулькиной Алии Ряшидовны посвящена актуальной теме – изучению неразрывной связи дисфункции врожденного иммунитета, процессов окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и патогенетических механизмов воспаления.

Учитывая единичные работы, посвященные генетическим маркерам, факторам воспаления, особенно их ассоциациям в патогенезе и детекции

различных стадий первичной открытоугольной глаукомы, цель работы – исследовать ассоциацию полиморфных маркеров в генах, белковые продукты которых участвуют в реакциях врожденного иммунитета, с риском развития первичной открытоугольной глаукомы - является корректной, обоснованной и значимой. Медико-социальная актуальность темы несомненна.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основываясь на глубоком анализе литературных данных, диссертант правильно выбрала иммунологические маркеры и методики комплексного исследования. Возникновение и прогрессирование глаукомной оптической нейропатии при первичной открытоугольной глаукоме связано с инициацией иммунных механизмов, в том числе врожденного иммунитета, и развитием «стерильного» нейровоспалительного процесса. Именно в этом направлении и проведены основные исследования и получены убедительные данные.

Основные положения, выводы и рекомендации, изложенные в научно-квалификационной работе Кинкулькиной А.Р., обоснованы экспериментальными данными, базируются на достаточном объеме фактических результатов, наличии репрезентативного количества образцов биоматериала и анализе полученных данных с применением современных и валидных методов статистического анализа.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов, сформированных положений и выводов подтверждена достаточным объемом клинического материала (238 пациентов), тщательном подходе к выбору лабораторных методов исследования, а также применением адекватных статистических методов обработки полученных результатов.

Автором впервые показана комплексная оценка факторов врожденного иммунитета, белковые молекулы которых участвуют в активации инфламмасомного комплекса, окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, с риском развития первичной открытоугольной глаукомы, а именно:

- увеличение экспрессии компонентов инфламмасомного комплекса NLRP3 (NLRP3 и CASP1) в экспериментальной модели *in vivo*; кроме того, при исследовании полиморфных маркеров генов *NLRP3* (*rs7525979*) и *CASP1* (*rs530537*) в венозной крови пациентов с ПОУГ также были выявлены значимые ассоциативные связи.

- впервые показано, что полиморфные маркеры *T786C* (*rs2070744*), *C774T* (*rs1549758*), *Glu 298Asp* (*rs1799983*) в гене *eNOS* и *rs5351* в гене *EDNRB*, ассоциированы с развитием ПОУГ, а также проведен анализ связи с различными стадиями изучаемой патологии.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

В рамках проведенной научной работы раскрыты новые фундаментальные положения современного понимания иммунопатогенеза глаукомной нейрооптикопатии. На основании этого определены новые прогностические маркеры ПОУГ, которые могут служить основой при разработке диагностической панели изучаемой патологии, а также усовершенствованных подходов в тактике ведения и лечения пациентов с глаукомой.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации нашли применение и включены в программы обучения студентов при подготовке специалистов по направлениям «Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия», «Фармация», «Стоматология» на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева Института общественного здоровья имени

Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспортам специальностей

Результаты проведенного исследования соответствуют паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология: пункту 1 – фундаментальные исследования, посвященные изучению строения, и функционирования иммунной системы, ее онто- и филогенеза, пункту 2 – изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии, и пункту 6 – разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов, а также паспорту научной специальности 3.1.5. Офтальмология: пункту 1 – изучение патогенеза, разработка и экспериментальное моделирование глазной патологии, пункту 2 – усовершенствование известных и разработка новых методов диагностики органа зрения и его придаточного аппарата, и пункту 3 – разработка методов профилактики заболеваний глаза и его придаточного аппарата.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По результатам исследования автором опубликовано 10 научных работ, отражающих содержание диссертации, в том числе 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science, Scopus, PubMed, Chemical Abstracts, Springer и включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России («Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», «Российский иммунологический журнал», «Медицинская иммунология»), 2 иные публикации по теме диссертационного исследования («Российский иммунологический журнал», «Медицинская иммунология»), 5

публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Содержание и оформление диссертационной работы

Содержание научно-квалификационной работы изложено логически, последовательно, имеется все необходимые разделы. Диссертационная работа изложена на 126 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, 7 приложений. Работа иллюстрирована 12 таблицами (из них 7 в Приложениях), 42 рисунками (из них 1 в Приложении). Библиографический список включает 195 источников, в том числе 36 отечественных, 159 зарубежных.

Во введении отражены актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи, обоснована новизна и практическая значимость работы, описаны методы исследования, положения, выносимые на защиту, отражены данные о внедрении полученных результатов в учебный процесс, апробации результатов и личный вклад автора в работу.

В первой главе автор приводит обзор литературы по теме исследования, которая имеет 4 подглавы. Повествование начинается с анализа литературы по вопросу современных представлений об эпидемиологии глаукомы на территории Российской Федерации в целом и по регионам отдельно, приведены уникальные результаты эпидемиологического анализа заболеваемости глаукомой среди жителей г. Перми и районов Пермского края в период с 2008 по 2023 г. Далее подробно изложены основные понятия и классификация глаукомы. Наибольшее внимание в обзоре литературе автор уделил системе иммунной регуляции глаза в норме, подробно описываются особенности иммунологической защиты органа зрения в норме и при

патологии, роли факторов врожденного иммунитета при первичной открытоугольной глаукоме. Обзор литературы включает достаточное количество источников и освещает современное состояние изучаемой патологии, раскрывается неоднозначность мнений разных авторов об изменении иммунной системы при первичной открытоугольной глаукоме.

Во второй главе представлено описание методологии исследования. Автор приводит характеристику включенных в исследование клинических групп, дизайн и методы исследования, статистическую обработку полученных результатов. Используемые иммунологические методы исследования, среди которых выделение РНК/ДНК сорбционным методом, постановка реакции обратной транскрипции, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, являются адекватными и современными, обеспечивают высокую воспроизводимость и достоверность полученных данных.

Третья глава «Результаты и обсуждение» отражает результаты собственных исследований автора и включает 5 подпунктов. Последовательно представлены данные по изучению локального ответа со стороны изучаемых компонентов инфламмосомного комплекса NLRP3 (NLRP3 и CASP-1) на модели *in vivo*, полиморфных маркеров тех же компонентов в венозной крови пациентов с ПОУГ. Особое внимание привлекло сохранение локального ответа со стороны изучаемых компонентов NLRP3: высокая экспрессионная активность генов белков (NLRP3 и CASP-1) определялась во всех ТК сетчатки/РПЭ опытных глаз. Кроме того, при исследовании полиморфных маркеров генов *NLRP3* и *CASP1* в венозной крови пациентов с ПОУГ также были выявлены значимые ассоциативные связи: определены маркеры, ассоциированные с риском развития ПОУГ - аллель *T*, генотип *TC* полиморфного локуса *rs7525979* гена *NLRP3*, аллель *T* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1*; протективными являются аллель *C* и генотип *CC* полиморфного локуса *rs7525979* гена *NLRP3* и генотип *CC* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1*. Все это указывает

на большую роль NLRP3 и CASP1 в иммуннопатогенезе нейровоспаления и усилении нейродегенеративных процессов при ПОУГ.

В третьем и четвертом подпунктах данной главы описано распределение частот генотипов, аллелей и гаплотипов по полиморфным маркерам *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS* среди пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Автором показано, что аллель *C*, генотип *TT* полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS*, гаплотип *TTTTTT* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T/rs 1799983 Glu 298Asp*) ассоциированы с риском развития ПОУГ, кроме того выявлено, что гаплотипы *TCTC* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T*), *TCTT* (*rs 2070744 T786C/rs1799983 Glu 298Asp*) играют для пациентов с ПОУГ протективную роль.

В пятом подпункте представлены результаты исследования ассоциации полиморфного маркера *rs 5351* гена рецептора эндотелина-1 В-типа (*EDNRB*) с риском развития ПОУГ: генотип *GG* является прогностическим для данной патологии, тогда как аллель *A* и генотип *GA* – протективными.

Полученные результаты сопоставлены с результатом ряда работ других исследователей, сопровождаются рисунками и таблицами.

В заключении автор обобщает полученные данные. Выявлены взаимосвязи процессов воспаления с факторами окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции, которые способствуют апоптозу ганглиозных клеток сетчатки и развитию нейродегенеративного процесса при первичной открытоугольной глаукоме.

На основании полученных результатов сформированы корректные и объективные выводы, которые соответствуют поставленным задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и резюмирует выводы диссертационной работы А.Р. Кинкулькиной.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации

В представленной работе имеются отдельные стилистические погрешности, не носящие принципиальный характер, которые не снижают научной и практической значимости исследования. Замечаний по диссертационному исследованию нет, но тем не менее при ознакомлении работой возник ряд вопросов для обсуждения:

1. Почему на этапе разработки дизайна исследования автор останавливается на выборе именно данных полиморфизмов изучаемых генов в контексте других патогенетических механизмов развития ПОУГ?
2. Какая использовалась лабораторная методика для определения последовательности олигонуклеотидов полиморфизмов генов и методы их валидации?
3. Каковы перспективы дальнейших исследований вы видите?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Кинкулькиной Алии Ряшидовны на тему: «Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме», выполненная под руководством д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Свитич Оксаны Анатольевны и д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Гавриловой Татьяны Валерьевны на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.5 Офтальмология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи - изучение ассоциации экспрессионных и полиморфных маркеров в генах факторов, белковые молекулы которых участвуют в активации инфламмосомного комплекса, окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, с риском

развития первичной открытоугольной глаукомы, имеющей существенное значение для иммунологии и офтальмологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Кинкулькина Алия Ряшидовна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.5. Офтальмология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой нормальной и патологической физиологии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
690002, Приморский край, город Владивосток, проспект Острякова, дом 2,
тел. 8 (914) 707-85-59, email: markev2010@mail.ru; markelova.ev@tgmu.ru

Маркелова Елена Владимировна


(подпись)

Специальность: 3.2.7. Иммунология (14.03.09)

Согласна на обработку персональных данных.

12 20 24 г.

Подпись доктора медицинских наук, профессора Маркеловой Елены Владимировны заверяю:

Первый проректор ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

Транковская Лидия Викторовна


(подпись)

23 12 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
690002, Приморский край, город Владивосток, проспект Острякова, дом 2,
тел. 8 (423) 242-97-78, сайт: <https://tgmu.ru>