

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России

(Пироговский Университет)

Д.б.н., профессор, профессор РАН

Ребриков Д.В.



12

2024 г.

Отзыв ведущей организации Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет) на тему: «Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.5. Офтальмология в диссертационный совет ДСУ 208.001.34 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Актуальность темы диссертационной работы

Глаукома является глобальной проблемой здравоохранения, затрагивающей миллионы людей по всему миру. По данным ВОЗ, прогнозируемая численность пациентов с глаукомой в мире неуклонно растет, и к 2030 году составит 95,4 миллиона человек. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) определяется как прогрессирующее мультифакториальное заболевание с развитием глаукомной оптической нейропатии с типичными изменениями структуры головки зрительного нерва и внутренних слоев сетчатки. Большое значение в развитие данного заболевания играют иммунологические, генетические факторы, наличие сопутствующей патологии.

Согласно текущей информации, в настоящее время ПОУГ более чем в 50% случаев обнаруживается в развитой и далекозашедшей стадиях заболевания. Многими клиническими исследованиями было показано, что снижение уровня внутриглазного давления (ВГД) позволяет предупредить развитие и прогрессирование глаукомной оптической нейропатии (ГОН). Однако в отдельных случаях, несмотря на нормализацию уровня ВГД, наблюдается прогрессирование ГОН. В то же время, у ряда пациентов с высоким уровнем ВГД нейрооптикопатия не развивается, или протекает очень медленно. По этой причине понимание этиопатогенетических процессов,

Представлены данные по оценке экспрессии генов инфламмосомного комплекса NLRP3 и CASP1 в экспериментальной модели кролика с дегенерацией сетчатки: высокая экспрессионная активность генов белков (NLRP3 и CASP1) определялась во всех ТК сетчатки/ППЭ опытных глаз. Описаны результаты исследования ассоциации полиморфных маркеров генов белков инфламмосомного комплекса *NLRP3* (*NLRP3*, *CASP1*) в крови пациентов с ПОУГ с риском развития данной патологии: аллель *T*, генотип *TC* полиморфного маркера *rs7525979* гена *NLRP3* ассоциированы с риском развития ПОУГ, особенно тяжелых форм заболевания, а аллель *C* и генотип *CC* играют протективную роль. Аллель *T* полиморфного маркера *rs530537* гена *CASP1* также ассоциирован с развитием ПОУГ, усугубляя тяжесть течения заболевания, генотип *CC* играет протективную роль. Показано распределение частот генотипов и аллелей по полиморфным маркерам *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS*, *rs5351* гена *EDNRB* среди пациентов с ПОУГ: аллель *C*, генотип *TT* полиморфного маркера *T786C* гена *eNOS* ассоциированы с риском развития ПОУГ, гаплотип *TTTTTT* (*rs 2070744 T786C/rs 1549758 C774T/rs 1799983 Glu 298Asp*) ассоциирован с развитием ПОУГ, усугубляя развитие II стадии заболевания, а гаплотип *TTTCCC* играет протективную роль для той же стадии патологии, 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; генотип *GG* полиморфного маркера *rs5351* гена *EDNRB* ассоциирован с риском развития ПОУГ, аллель *A* и генотип *GA* играют протективную роль для пациентов с глаукомой.

Таким образом, проведен развернутый комплексный анализ системы врожденного иммунитета при ПОУГ, на основании которого возможно создание панели прогностических маркеров для оценки риска развития данной патологии на ранних стадиях.

В заключении обобщены полученные результаты исследования. По полученным результатам сформулированы 5 научных выводов, которые соответствуют цели и задачам диссертационного исследования, обоснованы полученными научными результатами и подтверждены актуальными методами статистического анализа данных.

Диссертация написана грамотным языком и имеет структурную и логическую последовательность в изложении, научную и практическую ценность.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

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

связанное с передней камерой глаза. Приведенные литературные данные обосновывают необходимость дальнейших научных исследований по изучаемой проблематике.

Глава 2 «Материалы и методы» включает описание групп пациентов, вошедших в исследование, используемых методов постановки экспериментов, описан комплексный подход к оценке врожденного иммунитета при ПОУГ. Клиническим материалом служила периферическая кровь 238 пациентов с офтальмологической патологией, которая была предоставлена кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России. Все пациенты подписывали добровольное согласие на участие в исследовании. Основную группу составили 141 пациент с первичной открытоугольной глаукомой, среди которых 77 мужчин и 64 женщины в возрасте от 55 до 89 лет (средний возраст 71 год \pm 7,5). В зависимости от стадии заболевания сформированы 4 подгруппы, при этом пациентов с двусторонним процессом различных стадий относили в группу по худшему глазу с более продвинутой стадией ПОУГ: 1-ая подгруппа – пациенты с I стадией заболевания – 31 человек; 2-ая – со II стадией – 33 человека; 3-я – с III стадией – 50 человек; 4-ая – с IV стадией – 27 человек. Зрительные функции соответствовали стадиям глаукомного процесса. Группу сравнения составили 97 человек, у которых была возрастная катаракта (H25.0) различной степени зрелости и отсутствовали признаки глаукомы. По полу и возрасту группы были сопоставимы. В процессе сбора анамнеза из 141 обследованного пациента с глаукомой данные о наличии или отсутствии наследственности смогли предоставить 60 человек (43%). Об отсутствии глаукомы у ближайших родственников сообщил 51 пациент (85%). На наличие отягощенной наследственности по глаукоме у ближайших родственников указали 9 человек (15%), при этом у 8 – по материнской линии, у 1 – по отцовской линии.

Материалом молекулярно-биологического исследования служили 28 образцов тканевого комплекса сетчатки/ретиального пигментного эпителия, выделенные из глаз экспериментальных животных с дегенерацией сетчатки (14 кроликов, 14 глаз) и здоровых животных (7 кроликов, 14 глаз) согласно стандартным протоколам. Биоматериал переносился в криобирки и хранился при температуре -70°C до проведения исследований.

В работе использованы методы выделения нуклеиновых кислот из биологического материала, обратной транскрипции, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Разработанный дизайн исследования в полном объеме отражает все этапы исследований для раскрытия поставленных цели и задач.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» отражает результаты собственных исследований автора и включает 5 подпунктов, посвященных изучению изменений показателей врожденного иммунитета при ПОУГ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты представляют интерес для специалистов различных профилей - иммунологов, врачей общей практики и офтальмологов. Разработанная автором панель прогностических маркеров (*NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*) позволит выявлять ранние изменения органа зрения при ПОУГ и корректировать тактику дальнейшего ведения пациента.

Основные результаты и выводы внедрены в учебный и научный процесс кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. А.А.Воробьева Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин микробиологии и иммунологии по направлениям подготовки «Лечебное дело», «Стоматология», «Медико-профилактическое дело», «Фармация», «Педиатрия».

Количество печатных работ

По результатам исследования автором опубликовано 10 научных работ, отражающих содержание диссертации, в том числе 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed и др., 2 иные публикации по теме диссертационного исследования, 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и содержание диссертации, ее завершенность

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. Работа характеризуется логической последовательностью изложения материала.

Во «Введении» обоснована актуальность выбранной темы исследования, определены цель и задачи, сформулированы научное направление, научная концепция и положения, выносимые на защиту. Отражены теоретическая и практическая значимость, вытекающие из новизны результатов, полученных в ходе исследования.

В главе 1 подробно освещены данные по имеющейся литературе на выбранную автором тему исследования: охарактеризованы особенности иммунной системы органа зрения в норме и при патологии, обсуждены три уровня защиты иммунной привилегированности: гематоофтальмологический барьер, наличие иммуносупрессивной среды, иммунное отклонение,

- В результате проведенной работы получены новые данные о прогностических и протективных маркерах в генах *NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*, которые могут быть ассоциированы с развитием ПОУГ.

- В результате исследования впервые разработана панель диагностических маркеров (*NLRP3*, *CASP1*, *eNOS*, *EDNRB*), которая позволит выявлять ранние изменения органа зрения при ПОУГ и корректировать тактику дальнейшего ведения пациента.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты диссертационного исследования Кинкулькиной А.Р. являются значимыми для науки и практики. Их внедрение целесообразно на уровне учреждений или отдельных научных коллективов, ведущих разработки в области создания персонализированных подходов к диагностике, оценке риска развития ПОУГ, прогноза и эффективности терапии данного заболевания. Так, в рамках проведенной научной работы был раскрыт ряд фундаментальных механизмов врожденного иммунитета у пациентов с ПОУГ, определены прогностические маркеры данного заболевания, проведена комплексная оценка факторов врожденного иммунитета и показано взаимное влияние при ПОУГ инфламмасомного комплекса *NLRP3*, как медиатора воспаления в иммунной системе глаза, и факторов, участвующих в процессе окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации нашли применение и включены в программы обучения студентов при подготовке специалистов по направлениям «Лечебное дело», «Педиатрия», «Стоматология» и внедрены в учебный процесс кафедры 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).

Личный вклад автора

На основании представленных материалов по диссертационной работе Кинкулькиной А.Р. можно сделать вывод, что автор принимала личное участие во всех ключевых этапах исследования, в том числе в выборе его направления, разработке дизайна, постановке цели и задач, формулировке положений и выводов, выполнении всех лабораторных экспериментов.

Автором тщательно проведен статистический анализ полученных результатов исследования и сопоставление их с имеющимися актуальными литературными данными. Автор лично участвовала в апробации результатов – подготовке статей и выступлениях на конференциях, и написании текста диссертации.

современное определение факторов риска развития, прогрессирования глаукомы является востребованным направлением. Процесс дегенеративно-деструктивного поражения зрительного нерва при ПОУГ ассоциирован с целым рядом факторов, среди которых ключевая роль принадлежит патологической активации иммунологических механизмов, в том числе врожденному иммунитету.

Рецензируемая работа посвящена одной из наиболее актуальных тем - исследованию иммунобиологических аспектов врожденного иммунного ответа, связанных с эндотелиальной дисфункцией, окислительным стрессом, митохондриальной дисфункцией, локальным воспалением при ПОУГ. В работе показана важная роль компонентов инфламмосомного комплекса NLRP3 в развитии данной патологии. Кроме этого, были комплексно оценены показатели врожденного иммунитета и проведен анализ взаимосвязи полиморфизма генов *eNOS*, *EDNRB* с риском развития ПОУГ, на основании чего определены прогностические маркеры этого заболевания. Таким образом, диссертационная работа Кинкулькиной А.Р. актуальна для фундаментальной науки и практического здравоохранения.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационное исследование Кинкулькиной Алии Ряшидовны соответствует пунктам перечня важнейших наукоемких технологий в тематике приоритетного направления научно-технического развития Российской Федерации «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения», а именно:

- технологии разработки лекарств и платформ нового поколения (биотехнологических, высокотехнологических и радиофармацевтических лекарственных препаратов);
- биомедицинские и когнитивные технологии здорового и активного долголетия.

Вышеуказанное исследование также выполнено в соответствии с основными направлениями научных исследований, осуществляемых в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.М. Мечникова».

Новизна исследования и полученных результатов

Проведенное автором научное исследование обладает достаточной научной новизной:

- Впервые показана важная роль компонентов инфламмосомного комплекса NLRP3 (NLRP3 и CASP1) на модели *in vivo* и у пациентов с ПОУГ.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

1. Диссертационная работа Кинкулькиной А.Р. выполнена на высоком научно-техническом уровне. Избранные автором методы иммунологического и молекулярно-генетического анализа, дизайн исследования актуальны и адекватны для достижения поставленных целей и задач исследования, что подчеркивает зрелость автора как исследователя. Обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается применением современных методов исследования, в том числе применением полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, а также использованием статистических методов обработки данных. Выводы, составленные на основе полученных результатов, полностью соответствуют поставленным задачам.

2. В ряде случаев имеются единичные сложные обороты, которые затрудняет восприятие информации и могли бы быть заменены, но это не умаляет достоинств работы. Замечаний по диссертационному исследованию нет, но тем не менее при ознакомлении работой возник вопрос для обсуждения:


1. В работе проведено исследование иммунологических особенностей врожденного иммунитета при первичной открытоугольной глаукоме преимущественно у жителей Пермского края. Возможно есть какие-либо популяционные особенности? Почему выбрана именно данная когорта?

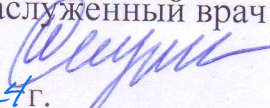
Заключение

Таким образом, диссертационная работа Кинкулькиной Алии Ряшидовны на тему: «Исследование молекулярно-генетических особенностей врожденного иммунного ответа при первичной открытоугольной глаукоме» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (медицинские науки) и 3.1.5. Офтальмология (медицинские науки), выполненная под руководством д.м.н., профессора чл.-корр. РАН, Свитич О.А. и д.м.н., профессора чл.-корр. РАН Гавриловой Т.В. 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 (медицинские науки) и 3.1.5. Офтальмология (медицинские науки).

Диссертационная работа, автореферат и отзыв обсуждены и одобрены на совместном заседании кафедры иммунологии Медико-биологического факультета и кафедры офтальмологии им. акад. А.П. Нестерова Института Клинической медицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет) (протокол № 58 от «20» декабря 2024 г.).

Профессор кафедры иммунологии
медико-биологического факультета
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России (Пироговский Университет)
д.м.н., профессор  Стенина Марина Александровна
«20» 12 2024 г.

И.О. заведующего кафедрой офтальмологии
им. акад. А.П. Нестерова Института Клинической медицины
ФГАОУ ВО РНИМУ Н.И. Пирогова
Минздрава России (Пироговский Университет),
Начальник офтальмологического центра (с дневным стационаром)
ФКУ «Центральный военный клинический госпиталь им. П. В. Мандрыка»
Минобороны России, Заслуженный врач РФ
д.м.н., доцент  Куроедов Александр Владимирович
«20» 12 2024 г.

Подпись Стениной М.А. и Куроедова А.В. заверяю:

Ученый секретарь
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России (Пироговский Университет)
к.м.н., доцент  Демина Ольга Михайловна
«20» 12 2024 г.



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, Тел.: 8 (495) 434-14-22. E-mail: rsmu@rsmu.ru