

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора кафедры неврологии с курсами нейрохирургии и медицинской генетики ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации **Бахтияровой Клары Закиевны** на диссертационную работу **Коробко Дениса Сергеевича** «Клинико-генетическое исследование рассеянного склероза (на примере популяции Новосибирской области)», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «14.01.11» – «нервные болезни».

### Актуальность темы выполненной работы

Рассеянный склероз (РС) - хроническое прогрессирующее демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, поражающее преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста (16–45 лет) и приводящее к инвалидизации. В большинстве стран мира наблюдается тенденция к увеличению распространенности рассеянного склероза не только среди взрослого населения, но и среди детей и подростков. Кроме того, заболеваемость РС возрастает в разных географических регионах и этнических группах, в том числе и там, где это заболевание ранее не обнаруживалось или встречалось в небольшом числе случаев. РС представляет собой серьезную научную, медицинскую и социальную проблему.

Вопросы этиологии и патофизиологии рассеянного склероза до настоящего времени остаются дискуссионными. Не вызывает сомнений то, что рассеянный склероз является не только воспалительным, но и нейродегенеративным заболеванием, ведущим к гибели аксонов.

Согласно одной из наиболее обоснованных теорий патогенеза рассеянного склероза, ведущую роль в разрушении миелина играет воспалительный процесс, связанный с аутоиммунными реакциями.

К настоящему времени признано, что рассеянный склероз является многофакторным полигенным заболеванием. Сформировалась точка зрения, что без знаний молекулярно-генетических основ этого заболевания невозможен прогресс в профилактике, медико-генетическом консультировании, прогнозировании роли факторов среды, в разработке эффективных мер терапии, основанных на знании индивидуальных особенностей пациента. Однако, несмотря на длительную историю исследований по генетике РС и значительное количество публикаций по данной проблеме, молекулярно-генетические основы заболевания остаются неясными. Результаты многочисленных исследований разного масштаба, проведенных в популяциях разных народов мира и посвященных анализу ассоциаций с заболеванием полиморфных локусов разных генов, весьма противоречивы. Поэтому до сих пор не представляется возможным сформулировать какую-либо окончательную концепцию о молекулярно-генетических основах рассеянного склероза. Очевидна необходимость проведения исследований в популяциях разных народов мира, в том числе и для того, чтобы выявить популяционно-генетические особенности наследственной обусловленности заболевания.

Диссертационная работа Коробко Дениса Сергеевича посвящена исследованию молекулярно генетических основ рассеянного склероза. Цель работы заключалась в том, чтобы оценить вклад полиморфных локусов некоторых генов иммунной системы в генетическую предрасположенность к рассеянному склерозу и формирование клинической картины заболевания у больных, проживающих в Новосибирской области. Исходя из вышеизложенного, диссертационная

работа Коробко Д. С. является своевременной и актуальной. Задачи исследования в полной мере отражают пути достижения поставленной цели.

### **Достоверность и новизна результатов работы**

Экспериментальная часть диссертационной работы была тщательно спланирована, выполнена на значительных по объему выборках. Использованные статистические критерии являются стандартными, что позволяет проводить сопоставление собственных результатов с данными других исследователей.

Молекулярно-генетические исследования выполнены на современном уровне. Все это позволило автору работы получить достоверные и обоснованные результаты.

Научная новизна работы состоит в том, что были получены сведения о значимости конкретных генов-кандидатов иммунной системы в формировании предрасположенности к развитию рассеянного склероза у жителей Новосибирской области. Выявлены специфические маркеры риска развития рассеянного склероза. Впервые определено прогностическое значение носительства отдельных аллельных вариантов изученных полиморфных локусов генов CD40, TNF, а также rs3135388 в отношении клинических особенностей заболевания (скорость прогрессирования, тип течения, среднегодовое количество обострений) и ответа на иммуномодулирующую терапию. Описаны семейные случаи РС в Новосибирской области.

### **Научная и практическая значимость работы**

Результаты исследования имеют несомненную научно-практическую значимость. Полученные автором сведения о полиморфных локусах генов, ассоциированных с заболеванием,

представляют значительный интерес для планирования мероприятий в профилактической медицине с целью снижения риска развития рассеянного склероза.

Выявленные данные об ассоциациях аллельных вариантов полиморфных локусов генов с клиническими характеристиками РС и ответом на терапию препаратами, изменяющими течение РС дадут возможность специалистам использовать их в качестве дополнительных прогностических факторов, что будет способствовать совершенствованию дифференцированного, индивидуального подхода к выбору медикаментозной терапии при ведении различных групп пациентов с РС. Также полученные данные создают основу для разработки фармакогеномного подхода к определению терапевтической эффективности и рефрактерности при данном заболевании.

### **Объем и структура диссертации**

Объем и структура диссертации полностью соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Диссертация построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, глав, в которых описываются материалы и методы исследования, полученные результаты, главы, посвященной обсуждению результатов исследования, а также выводов, списка используемой литературы, приложения. Материал представлен на 142 страницах, проиллюстрирован 25 таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает 260 источников (67 отечественных и 193 зарубежных). Во введении автором показана сложность и актуальность проблемы, четко выражены цель и задачи исследования, раскрыты новизна и практическая значимость работы.

**Обзор литературы** написан емко, хорошим литературным языком, с глубоким знанием проблемы. В данной главе приводится подробный анализ литературных данных, полученных в ходе изучения рассеянного склероза отечественными и зарубежными исследователями. Автором достаточно полно освещаются основные положения существующей концепции этиологии и патогенеза рассеянного склероза, а также достижения в области познания молекулярно-генетических основ заболевания по результатам ассоциативных и полногеномных исследований.

Глава, описывающая **материалы и методы** исследования, отражает объем проведённой работы и методологические подходы по её выполнению.

Работа выполнена на значительной по численности выборке больных и здоровых лиц (326 и 575 человек соответственно), русской этнической принадлежности, проживающих в Новосибирской области.

Для исследования были выбраны адекватные методы, необходимые для выполнения поставленных задач (клинико-неврологическое исследование, МРТ, ПЦР). Полученные результаты подверглись статистическому анализу с использованием необходимых для такого рода исследований пакета прикладных компьютерных программ (Statistica for Windows, v.8.0 (StatSoft, Inc.) и языка программирования R (version 2.11.0, [www.r-project.org](http://www.r-project.org))).

Главы, посвященные **анализу результатов работы**, значительны по объему изложенного в ней фактического материала, хорошо структурированы, включают таблицы и рисунки. Глава 3 посвящена влиянию генетических факторов на риск развития рассеянного склероза в популяции Новосибирской области. Глава 4 – влиянию генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза. В 5

главе изложены результаты изучения клинико-генетических особенностей семейных случаев рассеянного склероза.

Выявленные генетические факторы риска РС в популяции Новосибирской области поддерживают положение о РС как полигенном заболевании, в развитии которого задействованы несколько генов, а генетическая предрасположенность реализуется путем сложного взаимодействия аллелей различных полиморфных локусов генов-кандидатов. Полученные данные позволяют рассматривать в качестве генетических факторов риска РС в популяции Новосибирской области носительство аллеля Т полиморфного локуса rs3135388 и аллеля Т полиморфного локуса rs1883832 CD40. А генотип СС rs3135388 является протективным, т.е. маркером пониженного риска РС. Показано влияние генетических факторов на эффективность иммуномодулирующей терапии. Поскольку до 30-50% больных РС не отвечают на специфическую терапию первой линии (интерферон-бета или глатирамера ацетат), выяснение генетических вариантов-предикторов ответа на лечение может быть очень полезным для индивидуализированного ведения пациента. Подтверждено наличие особенностей фенотипа семейного РС на примере сибирской когорты: более мягкое, доброкачественное течение с медленной скоростью прогрессирования, отсутствие первично-прогрессирующих форм.

В главе, посвященной **обсуждению работы**, проведен тщательный анализ результатов исследования, с привлечением и анализом литературных данных. Продумана последовательность изложения результатов исследования. В целом при ее чтении создается весьма цельная картина самого исследования и его развития.

Все выводы диссертации логичны и аргументированы. Они основаны на добротных научных данных и их тщательном анализе.

Сформулированные автором **выводы** диссертации отражают новизну исследования, соответствуют поставленным цели и задачам.

### **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций**

В основе научных положений данной диссертационной работы лежит тщательный анализ поставленной проблемы в целом и полученных автором результатов. Обоснованность научных положений диссертации, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

Автором проанализирован вклад генов TNF, TNFRSF1A, CD40, KIF1B в развитие РС в популяции Новосибирской области. Установлены клиничко-генетические особенности фенотипа семейного рассеянного склероза в Новосибирской области, шанс развития рассеянного склероза увеличивает носительство определенных риск-аллелей полиморфных локусов генов иммунного ответа. Выявлено достоверное влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза.

### **Сведения о полноте опубликованных научных результатов**

По результатам работы опубликовано 17 работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 - в рецензируемых зарубежных изданиях, а также доложены на конференциях.

### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации Коробко Д.С. соответствует основным положениям диссертации, в нем отражены актуальность темы, научная новизна, практическая значимость, основные результаты и их обсуждение, выводы и практические рекомендации.

### **Замечания к работе**

Принципиальных замечаний нет. В тоже время следует отметить имеющиеся стилистически несогласованные предложения. Желательно было бы использовать термин полиморфный локус (участок) гена, а не полиморфизм; анализ аллельных частот полиморфных локусов, а не частотный анализ аллелей; анализ ассоциаций полиморфных локусов с РС, а не частотный ассоциативный анализ полиморфных локусов. В таблицах (в частности, в таблице 3 и др.) частоты генотипов представлены в %, а частоты аллелей (таблица 4 и др.) - в долях единицы. Ген фактора некроза альфа обозначается как TNF, а не TNF-а (обозначения генов в базе GeneCards). В автореферате имеется погрешность в обозначении полиморфизма: 308G>A, а нужно -308G>A, поскольку это полиморфизм в промоторной области гена TNF.

#### Вопросы.

1. В работе проводится анализ данных с учетом возраста, пола, типов течения заболевания и т.д., т.е. выборка больных подразделяется по разным признакам на подгруппы. В связи с этим необходимо было вводить поправку на множественность сравнений. Из текста диссертации и автореферата не ясно, проводился ли такой анализ, позволяющий оценить ложно положительные или ложно отрицательные ассоциации.

2. Проведен мета-анализ с использованием данных литературы. Не указано в диссертации, с помощью какой программы он осуществлялся.

#### Заключение:

Таким образом, диссертация Коробко Дениса Сергеевича «Клинико-генетическое исследование рассеянного склероза (на примере популяции Новосибирской области)» является научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи, имеющей существенное значение для неврологии. Диссертационная работа Д.С. Коробко полностью удовлетворяет требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением



Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Д.С. Коробко заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – «нервные болезни».

Доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии с курсами нейрохирургии и медицинской генетики ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Бахтиярова К.З.

450087, г. Уфа, ул. Достоевского, факс 8(347)2511007

Подпись д.м.н.

ЗАВЕРЯЮ: —

Ученый секрет

Меркушева А.

