

Отзыв официального оппонента

**доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой
клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного
профессионального образования ФГАОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»**

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Щербо Сергея Николаевича

**на диссертационную работу Макаровой Ангелины Геннадьевны
«Церебральная микроангиопатия: профиль экспрессии генов,
ассоциированных с воспалением (клинико-лабораторное исследование)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальностям: 3.1.24 – Неврология, 3.3.8 – Клиническая лабораторная
диагностика**

Актуальность темы выполненной работы

Диссертация Макаровой Ангелины Геннадьевны посвящена актуальной проблеме изучения механизмов развития церебральной микроангиопатии. Изучение церебральной микроангиопатии и ее связи с когнитивными расстройствами имеет высокую актуальность и значимость, что обусловлено не только высокой распространенностью заболевания, но и связью с серьезными последствиями, включая инсульты, инвалидность и смертность.

Одним из наиболее распространенных проявлений церебральной микроангиопатии являются когнитивные нарушения, которые могут быть одним из первых ее проявлений. Это значит, что ранняя диагностика и эффективное лечение церебральной микроангиопатии может иметь важное значение для предотвращения или замедления прогрессирования когнитивных нарушений.

Патогенез церебральной микроангиопатии до сих пор не полностью понятен, что осложняет разработку эффективного модифицирующего лечения. Несмотря на интенсивное лечение артериальной гипертензии, основного фактора риска церебральной микроангиопатии, наблюдается недостаточное снижение

частоты когнитивных расстройств в популяции, что подчеркивает необходимость более глубокого понимания механизмов развития заболевания и разработки новых подходов к его терапии.

В последние годы существенный прогресс был достигнут в понимании роли воспаления и иммунной системы в патогенезе церебральной микроангиопатии. Проведенные исследования показали значимую роль воспаления, эндотелиальной дисфункции, повреждения гематоэнцефалического барьера в патогенезе церебральной микроангиопатии.

Для формирования оригинальной диагностической панели оценки экспрессии генов воспаления, автором проведен анализ результатов полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) при возраст-зависимой церебральной микроангиопатии, МРТ-признаках заболевания, при артериальной гипертензии и болезни Альцгеймера. С использованием баз данных были отобраны гены, которые послужили основой создания индивидуальной панели оценки экспрессии генов. Данный подход к формированию исследовательской панели обусловлен современной тенденцией к дополнению GWAS-данных исследованиями профилей экспрессии генов, ассоциированных с заболеваниями.

Оценка экспрессии генов в данном исследовании проводилась на анализаторе NanoString nCounter – относительно новой платформе для количественного определения РНК, которая отличается высокой степенью автоматизации и эффективностью по времени, а ее чувствительность сравнима с ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Результаты исследования, полученные на анализаторе NanoString nCounter, подтверждены ПЦР с детекцией в режиме реального времени.

**Связь с планом научно-исследовательской работы, в рамках которой
выполнена диссертация**

Диссертационная работа Макаровой Ангелины Геннадьевны выполнена в соответствии с планом НИР в рамках темы научно-исследовательской работы

Мультидисциплинарные подходы к изучению цереброваскулярной патологии" (внутренний номер 208), регистрационный номер ЦИТиС 122041300193-8.

Новизна исследования полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В результате данного исследования разработана и апробирована панель оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением при церебральной микроангиопатии. На анализаторе NanoString nCounter осуществлена оценка экспрессии генов, ассоциированных с процессами воспаления, при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами на российской популяции, что позволило выявить гены, изменение экспрессии которых, может быть связано с развитием и прогрессированием церебральной микроангиопатии и когнитивных расстройств, а также с тяжестью основного фактора риска заболевания – артериальной гипертензии. Кроме того, определен профиль генов, дифференциально экспрессирующихся при установленных ранее типах церебральной микроангиопатии. Дифференциальный профиль экспрессии генов при двух типах заболевания позволил автору предположить разные механизмы заболевания и более значимый вклад воспалительных реакций в развитие второго типа.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Диссертационная работа выполнена на достаточно высоком методическом уровне с использованием современного метода молекулярно-генетической диагностики. Обоснованность и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается четко поставленными целью и задачами, строгим подходом к отбору пациентов в исследование, использованием в работе информативных диагностических методов, подробным описанием результатов исследования, обработанных соответствующими для приведенных выборок непараметрическими методами статистического анализа. Выводы и научные

положения, представленные в работе, сформулированы четко и соответствуют результатам и задачам исследования.

Значимость полученных результатов исследования для науки и практики

В современной медицине существует два главных тренда: использование больших данных и персонализированный подход. В настоящее время увеличиваются объемы и сложность в обработке данных по различным биомаркерам (к 2025 г. секвенируют до ~40 экзобайт данных по геномам человека), происходит переход к персонализированным медицинским услугам и анализу ранних стадий заболевания. Разработанная технология нанопорового секвенирования позволяет выйти за рамки базового анализа ДНК, она также включает транскриптомный и эпигенетический анализы на одной платформе. Предлагается новый подход, который называют интегративным полногеномным анализом ассоциаций (iGWAS), где используется информация об экспрессии генов для исследования взаимосвязи однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) с фенотипом заболевания. В частности, исследуется экспрессия генов, взаимоотношения внутри кластеров ОНП и само заболевание, что позволяет разделить влияние генотипа на фенотип заболевания на две части. Первая часть — это эффект, опосредуемый уровнем экспрессии генов, который называют медиаторным эффектом, вторая часть обусловлена влиянием других биологических механизмов или внешней среды и называется альтернативным эффектом. Разработана глобальная система тестирования обоих эффектов для создания простых моделей патогенеза заболеваний.

В соответствии с описанными выше современными подходами и технологиями, создание оригинальной панели оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, позволило автору установить значимые гены для оценки тяжести течения заболевания и связанных с ним когнитивных расстройств. В дальнейшем появится возможность не только прогнозировать течение заболевания, но и дифференцировать различные формы церебральной

микроангиопатии и предсказывать риск развития смешанных сосудисто-дегенеративных форм. Это может помочь в выборе оптимальной стратегии лечения и управления пациентами, а также способствовать разработке новых методов диагностики и терапии для этих состояний.

Оценка содержания диссертации

Оформление и последовательность изложения материала отвечают требованиям ВАК. Диссертационная работа Макаровой А.Г. изложена на 148 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц и иллюстрирована 17 рисунками. Диссертация включает следующие традиционные разделы: оглавление, введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Библиографический указатель содержит 478 источников литературы, а также 13 собственных публикаций автора, подготовленных по теме диссертационной работы.

Во введении автором отражена актуальность проблемы, определены цель научной работы и задачи, поставленные для достижения цели исследования.

Первая глава содержит обзор литературы, который отражает современные представления об эпидемиологии, установленных факторах риска и механизмах, участвующих в патогенезе заболевания. Большая часть литературного обзора посвящена обсуждению роли воспаления в патогенезе церебральной микроангиопатии: дано определение понятий системного и локального воспалений, а также нейровоспаления. Для системного и локального воспаления обсуждаются маркеры (в том числе в крови) и механизмы повреждения сосудов, сосудистой стенки и мозга при церебральной микроангиопатии. Отдельный раздел посвящен нейровоспалению: рассмотрены гистологические, иммуногистохимические и генетические исследования при церебральной микроангиопатии. Подробно анализируются многочисленные недавние полногеномные исследования ассоциаций (GWAS). Подчеркивается,

что иммунотерапия является перспективным методом подавления хронического нейровоспаления при церебральной микроангиопатии. Представленный обзор литературы имеет достаточный объем и подчеркивает осведомленность автора по различным направлениям темы исследования.

Во второй главе подробно описаны материалы и методы исследования, подход к формированию диагностической панели для анализатора NanoString nCounter, характеристики клинического материала исследования, методы статистического анализа. В первой части дана клинико-нейровизуализационная характеристика групп исследования. Во второй части представлены лабораторные технологии, в частности методы оценки экспрессии генов с использованием обратной транскрипции с последующим количественным ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Статистическая обработка результатов была проведена с использованием пакета прикладных программ «IBM SPSS Statistics, version 26.0» и на языке программирования R версии 4.2.2 с использованием «RStudio» (версия 2022.12.0-353).

Третья глава посвящена детальной оценке результатов собственных молекулярно-генетических исследований. Проведена оценка кластеризации отобранных генов, установившая их принадлежность к пяти функциональным группам регуляции. Для визуализации уровня экспрессии генов всех участников исследования построена тепловая карта. Отдельные разделы отражают клиническую картину, данные нейровизуализационного исследования, результаты молекулярно-генетического тестирования и сопоставление их с клиническими проявлениями, факторами сосудистого риска и МРТ-типами церебральной микроангиопатии.

В обсуждении рассмотрена связь полученных в ходе исследования результатов клинических и нейровизуализационных проявлений церебральной микроангиопатии с особенностями профиля экспрессии генов, ассоциированных с воспалением. В ней кратко и четко изложены основные результаты проведенной работы, показано их сравнение с данными современной литературы. Автор подробно проанализировал факторы риска,

клинические проявления, нейровизуализационные проявления и МРТ-типы церебральной микроангиопатии и экспрессию генов.

Выводы логично вытекают из содержания диссертации, обоснованы и полностью соответствуют поставленным целям и задачам научной работы.

Практические рекомендации сформулированы четко и понятно, что позволяет применять их в практической деятельности.

В качестве одного из подходов при дальнейшей разработке данной концепции можно рекомендовать включение в исследование высокочувствительного С-реактивного белка в дополнении к существующей диагностической панели биомаркеров.

Личное участие автора

Автору принадлежит определяющая роль в разработке протокола исследования, в постановке цели и задач, обосновании основных положений, формулировании выводов и практических рекомендаций. Отобраны пациенты, проведен сбор анамнеза, подробный клинико-неврологический осмотр, тестирование когнитивных функций, оценка сосудистых факторов риска, сбор и обработка биоматериала (образцы крови), интерпретация и анализ полученных результатов молекулярно-генетического тестирования. Автором проанализированы основные отечественные и зарубежные источники литературы, проведены аналитическая и статистическая обработка, а также обобщены полученные данные.

Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах

По материалам диссертации подготовлено 13 публикаций, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования Макаровой А.Г., выводы и практические рекомендации могут быть рекомендованы для работы практикующих врачей-неврологов как в амбулаторных, так и в стационарной практике, учебный процесс подготовки клинических ординаторов, аспирантов, и врачей-неврологов, которые обучаются на циклах повышения квалификации.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Макаровой Ангелины Геннадьевны соответствует основным положениям диссертации с отражением актуальности темы, научной новизны, основных результатов, выводов и практических рекомендаций.

Замечания

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Макаровой Ангелины Геннадьевны нет.

Заключение

Таким образом, диссертация Макаровой Ангелины Геннадьевны «Церебральная микроангиопатия: профиль экспрессии генов, ассоциированных с воспалением (клинико-лабораторное исследование)», выполненная под руководством д.м.н. Добрыниной Ларисы Анатольевны и д.м.н. Шабалиной Аллы Анатольевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по двум специальностям: 3.1.24 – Неврология и 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной задачи по уточнению роли воспаления в развитии церебральной микроангиопатии, ее клинических проявлений и вариантов течения на основе оценки экспрессии генов,

ассоциированных с воспалением, имеющей важное значение для развития неврологии и клинической лабораторной диагностики.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени согласно п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), а ее автор Макарова А.Г. достойна присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по двум специальностям: 3.1.24 – Неврология и 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики Факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук, профессор

Щербо С.Н.

Даю согласие на сбор, обработку и хранение персональных данных

Щербо С.Н.

Подпись Щербо Сергея Николаевича заверяю.

Ученый секретарь ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ кандидат медицинских наук, доцент



Демина О.М.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1
+7 (495) 434-03-29, +7 (495) 434-61-29; rsmu@rsmu.ru

«15» января 2024 г.