

Отзыв официального оппонента

на диссертацию Малышевой Ольги Михайловны «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика.

Соответствие диссертации заявленной специальности в отрасли науки

Диссертационная работа Малышевой О.М. выполнена с помощью молекулярно-генетических методов, и в том числе метода высокопроизводительного секвенирования, что однозначно свидетельствует о соответствии выносимых на защиту положений и выводов диссертации специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика», и отрасли «биологические науки», в частности пунктам 12. Секвенирование ДНК, генов, геномов; 18. Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных и мультифакториальных заболеваний человека и животных. Генотерапия; 20. Молекулярно-генетические методы выявления индивидуальных особенностей человека; согласно паспорта специальности науки, утвержденного ВАК Республики Беларусь.

Актуальность темы диссертации

Исследование О.М. Малышевой полностью соответствует приоритетным направлениям научных исследований и научно-технической деятельности Республики Беларусь на 2016–2020 гг., отраженным в пункте 3 «Биологические системы и технологии» Постановления Совета Министров Республики Беларусь №190 от 12.03.2015 и в пункте 4 «Медицина, фармация, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний; охрана здоровья матери и ребенка» Указа Президента Республики Беларусь № 166 от 22.04.2015. В этой связи снижение младенческой смертности является одной из ключевых задач, определяющих состояние демографической безопасности страны.

Рецензируемая диссертационная работа посвящена решению актуальной демографической проблемы – снижению младенческой заболеваемости и смертности. В Беларуси, как и во многих развитых странах мира, в настоящее время наблюдаются целый ряд демографических проблем – низкая рождаемость, интенсивное старение населения, сокращение численности населения трудоспособного возраста, изменение отношения к институту семьи и т. д. Поэтому деятельность республиканских органов государственного управления и социальных институтов направлена на создание устойчивых количественных и качественных параметров

воспроизводства населения. Демографическая политика направлена на создание устойчивых количественных и качественных параметров воспроизводства населения.

Причины и механизмы развития патологий новорождённых – это комплекс как наследственных, так и средовых факторов, определяющих индивидуальный риск и течение заболеваний. При этом вклад генов в процессы беременности и родов составляет от 50 до 80 %. Определение генетических детерминант риска развития патологий у новорожденных имеет первостепенное значение как для успешных родов, так и для предотвращения младенческой смертности.

Степень новизны результатов диссертации и научных положений, выносимых на защиту

В диссертационной работе Малышевой О.М. впервые в Беларуси выявлены генетические детерминанты риска развития бронхолёгочных патологий у недоношенных новорожденных. В частности, определены частоты распределения полиморфных вариантов генов компонентов системы ангиогенеза, тканевого ремоделирования (*VEGFA*, *TGFB1*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9* и генов компонентов системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*), ассоциированных с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести у недоношенных новорождённых детей.

Выявлены гендерные различия в ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием и тяжестью течения патологии.

Впервые в Беларуси проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией со сроком гестации 28–34 недели. С помощью специально созданной панели, включающей 88 генов-кандидатов, описаны редкие варианты в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства.

Полученные результаты представляют несомненный интерес для выяснения механизмов возникновения бронхолёгочной патологии у недоношенных младенцев.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа Малышевой Ольги Михайловны «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых» выполнена на современном методическом уровне, с использованием корректных и воспроизводимых методов. Автор владеет впечатляющим количеством

молекулярно-генетических методик, включая такие сложные как фрагментный анализ и полноэкзомное высокопроизводительное секвенирование, биоинформатическая обработка данных. Выбранные автором методология и дизайн исследования полностью соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

Полученные результаты представлены в первичной документации, подтверждены достаточным количеством фактического материала.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, а также достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

В рецензируемой диссертационной работе показана ассоциация ряда полиморфных вариантов генов ангиогенеза, тканевого ремоделирования и системы сурфактанта с дыхательными расстройствами у недоношенных новорожденных. Выявлены генетические маркеры оценки вероятности развития и тяжести течения патологии. Установлены гендерные различия во влиянии полиморфных вариантов генов на развитие и тяжесть течения синдромов бронхолёгочной дисплазии и дыхательного расстройства. В частности, установлена ассоциация однонуклеотидных замен и микросателлитных повторов в генах, кодирующих белки сурфактантной системы SP-B и SP-C (*SFTPB* и *SFTPC*), а также однонуклеотидных замен в генах системы тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9* и *TGFBI*), с развитием и тяжестью течения синдромов у недоношенных новорождённых, что позволяет рассматривать эти полиморфные варианты в качестве маркеров высокого риска данной патологии.

Установлено, что развитие ретинопатии у недоношенных новорождённых связано с вариантами генов, вовлеченных в ангиогенез (*FZD4*, *AGTR1*, *EPAS1*), тканевое ремоделирование (*TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*) и воспаление (*TLR6*, *TIRAP*, *SOD1*), что указывает на необходимость их определения при прогнозировании риска развития и течения ретинопатии недоношенных.

Установлены молекулярно-генетические особенности осложнений перинатального периода, а именно влияние генетических детерминант белков сурфактанта на развитие бронхолёгочной дисплазии у новорождённых, а также генетических компонентов ангиогенеза, тканевого ремоделирования и воспаления на развитие ретинопатии недоношенных.

Особое значение имеет выполненное полноэкзомное высокопроизводительное секвенирование образцов ДНК недоношенных

новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией, в результате которого выявлены редкие варианты в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства, а также обнаружение у недоношенных пациентов ранее не известного варианта p.Gln101Ter гена *TIRAP*. Эти результаты представляют особую значимость для выяснения молекулярно-генетических детерминант осложнений перинатального периода.

Разработана и опубликована Инструкция по применению «Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых», утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 136-1118 от 30.11.2018).

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (1 акт о внедрении), а также внедрены в клиническую практику УЗ «Клинический родильный дом Минской области» и УЗ «1-я городская клиническая больница» (2 акта о внедрении).

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 5 статей в научных изданиях, соответствующих требованиям ВАК Республики Беларусь согласно соответствующему пункту 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», объёмом 3,6 авторских листа. Кроме того, опубликованы 2 статьи в других рецензируемых изданиях, 1 инструкция по применению, 1 учебно-методическое пособие, 5 материалов конференций и тезисов докладов. Всё это свидетельствует о достаточно высокой опубликованности результатов диссертационного исследования.

Результаты диссертационной работы представлены на международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2018» (Минск, 2018), X съезде педиатров и I перинатальном конгрессе Республики Беларусь (Минск, 2018), XXII Конгрессе педиатров России с международным участием (Москва, 2020), республиканской научной конференции «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии» (Ташкент, 2022), V международной научной конференции, посвящённой 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова (Минск, 2022).

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа изложена на 179 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, 5 глав,

заклучения, списка использованных источников и 3 приложений. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 55 рисунками. Библиографический список включает 206 наименований, в том числе 179 на иностранном языке.

Диссертация содержит все необходимые разделы с заключением и практическими рекомендациями по практическому применению. В работе имеется большое количество таблиц, схем и рисунков, что облегчает оценку полученных результатов. Работа написана хорошим литературным стилем, имеются лишь единичные неудачные фразы и опечатки.

Оформление диссертации полностью соответствует требованиям ВАК.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Замечания по диссертации

1. На рисунке 3.5 (стр. 84) приведены «Значимые аллели и генотипы полиморфных локусов гена *SFTPC* в снижении и повышении риска развития дыхательных осложнений у недоношенных новорождённых», где «розовым цветом обозначены аллели и генотипы, выявленные у девочек, голубым – у мальчиков», но на рисунке нет ни мальчиков, ни голубого цвета.

2. На стр.10 написано. «Развитие ретинопатии недоношенных у новорождённых со сроком гестации 28–34 недели связано с распространёнными и редкими вариантами генов, вовлеченных в ангиогенез (*FZD4, AGTR1, EPAS1*), тканевое ремоделирование (*TGFBR1, MMP2, MMP9*) и воспаление (*TLR6, TIRAP, SOD1*)». Вопрос: с распространёнными **или** с редкими вариантами генов связано развитие ретинопатии? *Или оно связано как с распространёнными, так и с редкими вариантами?*

3. Встречаются неудачные фразы, например, «генетическая изменчивость белков» (стр.9). В ряде случаев неудачно используется термин «локус».

Все эти замечания носят редакционный характер и конечно не снижают общей высокой оценки работы.

Соответствие научной квалификации соискателя степени кандидата биологических наук

Диссертационная работа Малышевой Ольги Михайловны «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика, является завершённой самостоятельной квалификационной работой, отражающей высокую научную квалификацию соискателя. Актуальность, научная новизна и практическое значение работы не вызывают сомнений.

Выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, обоснованы и достоверны.

Ученая степень кандидата биологических наук может быть присуждена Малышевой Ольге Михайловне за совокупность результатов, включающих:

1. Определение частот аллелей и генотипов 18 полиморфных локусов генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза, тканевого ремоделирования, системы сурфактанта у новорождённых Беларуси.

2. Выявление полиморфных вариантов риска развития синдромов дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей.

3. Установление генетических детерминант тяжести течения дыхательного расстройства у новорождённых независимо от пола ребёнка.

4. Определение гендерных различий во влиянии полиморфных вариантов генов на развитие и тяжесть течения синдромов бронхолёгочной дисплазии и дыхательного расстройства.

5. Выполнение полноэкзомного высокопроизводительного секвенирования образцов ДНК недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией, в результате которого выявлены редкие варианты в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства, а также за обнаружение у недоношенных пациентов ранее не известного варианта p.Gln101Ter гена *TIRAP*.

6. Разработку панели из 88 генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей, которая может быть использована для выявления генетических маркеров риска данных патологий в белорусской популяции, а также для прогнозирования тяжести их течения.

7. Внедрение полученных результатов в клиническую практику отделений анестезиологии и реанимации для новорождённых детей УЗ «Клинический родильный дом Минской области» и в УЗ «1-я городская клиническая больница»

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор,

Главный научный сотрудник

Лаборатории генетики человека

Института генетики и цитологии НАН Беларуси

И.Б. Мосса

