

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

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Малышевой Ольги Михайловны по теме исследования, цели и задачам, объектам и предмету исследования, по выдвинутым на защиту положениям, основным результатам и выводам полностью соответствуют паспорту специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика» и отрасли – биологические науки, в частности, пп.12,18 и 20.

Актуальность темы диссертационной работы Малышевой О.М. определяется прежде всего тем, что одной из важнейших задач в области демографической безопасности страны является снижение младенческой смертности и заболеваемости. Известно, что среди новорождённых, умерших в неонатальном периоде, до 70% приходится на недоношенных и синдром дыхательного расстройства у новорождённых остается наиболее частым заболеванием у этих пациентов и может являться одной из причин развития бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных. Согласно современным представлениям, причины и механизмы развития этих заболеваний многофакторны и проявляется сложный характер взаимодействий как генетических, так и перинатальных факторов риска.

В основе синдрома дыхательного расстройства и осложнений в функционировании дыхательной системы недоношенных новорождённых лежит дефицит сурфактанта, проявляющийся в условиях дисбаланса кислородного и энергетического гомеостаза. На развитие бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных влияют окислительный стресс, аномальные уровни регуляторов ангиогенеза и воспалительные реакции. Так как выявление молекулярно-генетических изменений, связанных с этими состояниями, изучение роли генетических и средовых факторов в развитии синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у новорождённых будет способствовать раскрытию природы этих заболеваний, а также разработке эффективных методов профилактики, лечения и прогнозирования постнатального развития детей, то актуальность темы диссертации не вызывает сомнений.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, которые выносятся на защиту диссертации

В диссертационной работе Малышевой Ольги Михайловны получено много новых и важных результатов.

О научной новизне можно сказать следующее.

Впервые в Беларуси дана комплексная оценка частоты распределения полиморфных вариантов генов компонентов системы ангиогенеза и тканевого ремоделирования (*VEGFA*, *TGFB1*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*), генов компонентов системы сурфактанта (*SFTPВ*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести. Определена прогностическая значимость отдельных полиморфных вариантов генов, а также их сочетаний для оценки вероятности развития и течения синдрома дыхательного расстройства. Выявлены гендерные различия в ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства.

Впервые в Беларуси проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией со сроком гестации 28–34 недели с использованием сформированной панели, включающей 88 генов для оценки риска этих заболеваний. По результатам секвенирования описаны редкие варианты в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства, а также выявлен новый на момент исследования вариант p.Gln101Ter гена *IRTAP* у пациента с ретинопатией недоношенных.

Соискателем, вынесены на защиту 4 положения, которые базируются на результатах проведённого исследования и подробно раскрыты в опубликованных соискателем материалах.

К наиболее важным из положений можно отнести следующие.

Во-1-х, установлено, что однонуклеотидные замены и микросателлитные повторы в генах, кодирующих белки сурфактантной системы SP-B и SP-C (*SFTPВ* и *SFTPC*), ассоциированы с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых, что позволяет рассматривать их в качестве маркеров высокого риска этих состояний. Использование этих маркеров позволит расширить возможности генетической стратификации риска развития и тяжести течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых.

Во-2-х, выявлено, что однонуклеотидные замены в генах системы тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9* и *TGFB1*) связаны с синдромом дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых.

В-3-х, установлено, что носительство генотипа 413CC гена *SFTPC* белка

сурфактанта С и комбинации генотипов белков сурфактанта В и С 413CC_{SFTPC}/1580CT_{SFTPВ} ассоциировано с высоким риском развития бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–34 недели, что подчеркивает ведущую роль компонентов сурфактантной системы в патогенезе дыхательных осложнений у недоношенных детей.

В 4-х, показано, что 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*)

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертации выводы обоснованы и вытекают из представленных результатов экспериментальных исследований. Представленные в диссертации результаты экспериментов по их количеству и качеству достаточны для анализа, научных обобщений и объективных выводов. Высокий уровень проведенных исследований виден из результатов, представленных в 38 таблицах и на 55 рисунках. Статистическая обработка данных подтверждают достоверность полученных результатов. Сделанное на основе выводов заключение обосновано и в целом соответствует материалам диссертации и публикациям автора. Содержание автореферата полностью соответствует материалам, представленным в диссертации.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации и рекомендации по их использованию

На основании анализа представленных в диссертации и автореферате результатов можно заключить, что полученные результаты являются не только новыми, но и значимыми для современной медицинской генетики и неонатологии

Научная значимость диссертации соискателя определяется следующим.

1. Определены частоты аллелей и генотипов 18 полиморфных вариантов генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFB1*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPВ*, *SFTPC*) у новорождённых Беларуси.

2. Обнаружено, что аллель 256 п.н. маркера D2S388 гена *SFTPВ* ($p=0,028$), а также сочетание генотипов 1580CT_{SFTPВ}/557AA_{SFTPC} ($p=0,019$) ассоциированы с тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у новорождённых независимо от пола.

3. В группе недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–34 недели с бронхолёгочной дисплазией по сравнению с группой детей, имеющих тяжёлую форму синдрома дыхательного расстройства, чаще встречаются носители генотипа 413CC и аллеля 413C гена *SFTPC*, а также комбинации генотипов 413CC_{SFTPC}/1580CT_{SFTPB}

4. Показано влияние генетических вариантов компонентов тканевого ремоделирования на развитие ретинопатии недоношенных. Анализ данных полноэкзомного секвенирования показал, что редкие варианты нуклеотидной последовательности могут вносить вклад в проявление ретинопатии недоношенных

Наряду с фундаментальным характером выполненного исследования очевидна **практическая, и социальная значимость** результатов диссертационной работы.

Практическая значимость диссертации заключается в следующем.

На наш взгляд, в практическом плане важными являются разработанная и утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь Инструкция по применению «Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых», которая внедрена в клиническую практику отделений анестезиологии и реанимации для новорождённых детей УЗ «Клинический родильный дом Минской области», УЗ «1-я городская клиническая больница» и в учебный процесс на кафедре неонатологии и медицинской генетики ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Методическое пособие «Молекулярно-генетические аспекты развития у недоношенных детей бронхолёгочной дисплазии, ретинопатии, лейкомаляции головного мозга» можно рекомендовать к использованию в сфере дополнительного образования и повышения квалификации для врачей-педиатров-неонатологов, врачей-педиатров, врачей-анестезиологов-реаниматологов, врачей-генетиков.

Стоит отметить, что созданная коллекция образцов ДНК, выделенных из биологического материала доношенных новорождённых контрольной группы и недоношенных детей с дыхательными осложнениями и ретинопатией, передана в «Республиканский Банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов» и может быть использован для дальнейших молекулярно-генетических исследований осложнений перинатального периода.

Информационные ресурсы «База данных молекулярно-генетических характеристик у новорождённых контрольной группы», «База данных о информационном ресурсе молекулярно-генетических характеристик детей с бронхолёгочной дисплазией и новорождённых с дыхательными

расстройствами», «База данных клинико-метаболических и молекулярно-генетических характеристик пациентов с ретинопатией, бронхолёгочной дисплазией и лейкомаляцией мозга» рекомендуется использовать в научно-исследовательской работе по изучению генетических факторов, оказывающих влияние на развитие и прогрессирование бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных.

Сформированная соискателем панель из 88 генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей, может быть использована для прогнозирования их течения, а также для выявления генетических маркеров риска в популяции

Рассматриваемая диссертационная работа имеет социальную значимость..

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертационного исследования опубликована 14 работ: 5 статей в научных рецензируемых журналах, соответствующих пункту 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», 3 статьи в других журналах и сборниках научных работ, 4 тезиса докладов, 1 инструкция по применению и 1 учебно-методическое пособие.

Степень опубликованности основных положений и полученных результатов диссертационной работы в научных рецензированных изданиях является достаточной. Также достаточной является и апробация результатов работы на научных и научно-практических конференциях.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Относительно оформления работы можно сказать следующее. Диссертационная работа изложена на 179 страницах, оформлена по традиционному типу и состоит из введения, общей характеристики работы, литературного обзора (глава 1), главы 2, посвященной описанию материалов и методов исследования, трех глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждение (главы 3-5), заключения, списка использованных источников и собственных публикаций соискателя и приложений. Диссертация и автореферат очень хорошо иллюстрированы.

Литературный обзор обширный - 39 страниц. Он посвящен анализу структуры патологий неонатального периода и смертности недоношенных новорождённых, особенностей развития у них лёгких, анализу этиопатогенеза синдрома дыхательных расстройств и бронхолёгочной дисплазии, а также ретинопатии недоношенных новорождённых. Весьма похвально, что в обзоре детально рассмотрены современные представления о молекулярно-генетических нарушениях, ассоциированных с развитием синдрома дыхательных расстройств и бронхолёгочной дисплазии, с развитием ретинопатии. Сделан вывод о том,

что эти заболевания в первые недели жизни после рождения приводят к стойким нарушениям здоровья младенца в дальнейшем и поэтому возникла необходимость поиска молекулярных и генетических маркеров которые могли бы применяться для оценки риска развития патологий органов дыхания и зрения перинатального периода у недоношенных детей.

Литературный обзор интересен и богат публикациями последних лет.

Во 2-й главе диссертации «Материалы и методы исследования» соискатель представила арсенал использованных современных методов молекулярных и генетических исследований - ПЦР в режиме реального времени, капиллярный электрофорез, секвенирование по Сэнгеру, полноэкзомное секвенирование на платформе Illumina и др. методы, наряду с применением клинических и биоинформационных подходов.

Применение современных методов исследования ДНК позволило соискателю выполнить сложное молекулярно-генетическое исследование на высоком уровне.

О новизне, научной, практической и социальной значимости полученных результатов уже сказано выше.

При рассмотрении и анализе представленных в диссертации экспериментальных данных принципиальных замечаний не возникло.

Имеется лишь небольшое замечание по поводу вариации написания цели исследования на с. 2 (автореферат) и с. 8 (диссертация) и с. 20-21 (автореферат).

Встречались лишь единичные опечатки в тексте диссертации и в автореферате.

Так как получены интересные и важные результаты, которые могут быть широко использованы в медицинской практике, то хотелось бы узнать у соискателя о перспективах дальнейшего практического использования полученных результатов в неонатологии.

Рассматриваемая диссертационная работа заслуживает **высокой оценки**.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Представленные в диссертации материалы свидетельствуют о том, что **научная квалификация соискателя высокая** и полностью соответствует ученой степени, на которую она претендует.

Диссертационная работа Малышевой Ольги Михайловны «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолегочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых» является **завершённым, самостоятельно выполненным исследованием,**

содержащим научные результаты, соответствующие критериям новизны, научной, практической и социально-экономической значимости.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика» может быть присуждена Малышевой Ольге Михайловне за совокупность новых научных результатов по актуальному научному направлению в медицинской генетике и неонатологии, включающих:

- обнаружение полиморфных вариантов риска развития синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых,

- обнаружение факта, что однонуклеотидные замены в генах системы тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9* и *TGFB1*) связаны с синдромом дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых,

- экспериментальное доказательство, что носительство генотипа 413CC гена *SFTPC* белка сурфактанта С и комбинации генотипов белков сурфактанта В и С 413CC_{SFTPC}/1580CT_{SFTPB} ассоциировано с высоким риском развития бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых,

- установление связи развития ретинопатии недоношенных у новорождённых со сроком гестации 28–34 недели с распространёнными и редкими вариантами генов, вовлеченных в ангиогенез (*FZD4*, *AGTR1*, *EPAS1*), тканевое ремоделирование (*TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*) и воспаление (*TLR6*, *TIRAP*, *SOD1*).

- выявление с использованием сформированной панели, включающей 88 генов, нового на момент исследования варианта p.Gln101Ter гена *TIRAP* у пациента с ретинопатией.

Полученные результаты позволяют расширить возможности генетической стратификации риска развития и тяжести течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых.

Главный научный сотрудник
лаборатории медицинской
биофизики ГНУ «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»
д.б.н., профессор, член-корр. НАН Б

 Е.И.Слобожанина

09.02. 2026 г.

