

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе  
Белорусского государственного университета

« 12 »



## ОТЗЫВ

оппонирующей организации

Белорусского государственного университета

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 содержания диссертации заявленной специальности и  
отрасли науки со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей  
специальности, утвержденного ВАК.**

Диссертационная работа Малышевой Ольги Михайловны посвящена выявлению молекулярно-генетических факторов риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых.

В условиях неблагоприятной демографической ситуации в большинстве развитых стран, в том числе и в Беларуси, снижение младенческой смертности становится все более актуальной проблемой. Ежегодно во всем мире рождается около 10 % недоношенных детей. Среди новорождённых, умерших в неонатальном периоде, до 70 % приходится на недоношенных детей. Несмотря на существенный прогресс в выхаживании недоношенных детей, синдром дыхательного расстройства (СДР) у новорождённого, возникший в раннем неонатальном периоде, является наиболее частой причиной летальных исходов и возникновения хронической патологии дыхательной системы в дальнейшем (бронхолёгочной дисплазии (БЛД) и ретинопатии недоношенных (РН)). В основе СДР и развивающихся осложнений дыхательной системы лежит дефицит сурфактанта, проявляющийся в условиях дисбаланса кислородного и энергетического гомеостаза. Детекция молекулярно-генетических изменений в генах синтеза и сборки компонентов сурфактантной системы, ключевых эффекторов тканевого ремоделирования и ангиогенеза, позволяет выявить генетические факторы риска патологий неонатального периода – СДР, БЛД и РН. Поиск ассоциаций между полиморфными вариантами генов и патологиями неонатального периода, а также степенью выраженности их клинических проявлений может способствовать стратификации риска и индивидуализации терапии у новорождённых.

Целью работы было выявление молекулярно-генетических факторов риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолегочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых в Беларуси.

В ходе выполнения работы соискателем:

- для 8 генов у новорождённых Беларуси были определены частоты встречаемости аллельных состояний и генотипов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFB1*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*). Были рассчитаны риски развития патологий в зависимости от комбинации ряда факторов. Риск развития синдрома дыхательного расстройства у новорождённых повышен у носителей комбинации генотипов - 1575GG<sub>MMP2</sub>/- 1562CC<sub>MMP9</sub> ( $p=0,015$ ) независимо от пола, а у девочек – генотипа 2660AA гена *MMP9* ( $p=0,02$ ), комбинаций 2660AA<sub>MMP9</sub>/- 1562CC<sub>MMP9</sub> ( $p=0,011$ ) и - 18CC<sub>SFTPB</sub>/436-8CG<sub>SFTPC</sub> ( $p=0,03$ ).

- обнаружено, что аллель 256 п.н. маркера D2S388 гена *SFTPB* ( $p=0,028$ ), а также сочетание генотипов 1580CT<sub>SFTPB</sub>/557AA<sub>SFTPC</sub> ( $p=0,019$ ) ассоциированы с тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у новорождённых независимо от пола. Тяжесть течения этого заболевания у девочек определяется аллелем - 18C гена *SFTPB* ( $p=0,007$ ), комбинациями генотипов - 18AC<sub>SFTPB</sub>/413CC<sub>SFTPC</sub> ( $p=0,018$ ) и - 18AC/1580CT ( $p=0,03$ ) *SFTPB*, а у мальчиков – аллелем - 509A гена *TGFB1* ( $p=0,02$ ), а также сочетаниями генотипов - 509AG<sub>TGFB1</sub>/- 1575GG<sub>MMP2</sub> ( $p=0,031$ ) и 1580TT<sub>SFTPB</sub>/413CC<sub>SFTPC</sub> ( $p=0,03$ ).

- показано, что в группе недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–34 недели с бронхолегочной дисплазией по сравнению с группой детей, имеющих тяжелую форму синдрома дыхательного расстройства, чаще встречаются носители генотипа 413CC ( $p=0,014$ ) и аллеля 413C ( $p=0,034$ ) гена *SFTPC*, а также комбинации генотипов 413CC<sub>SFTPC</sub>/1580CT<sub>SFTPB</sub> ( $p=0,031$ ).

- показано влияние генетических вариантов компонентов тканевого ремоделирования на развитие ретинопатии недоношенных. У недоношенного новорождённого срока гестации 28–34 недели маркерами высокого риска ретинопатии являются генотип 2660AA гена *MMP9* ( $p=0,02$ ) и сочетание генотипов 2660AA<sub>MMP9</sub>/- 1575GG<sub>MMP2</sub> ( $p=0,024$ ), 2660AA<sub>MMP9</sub>/- 1562CC<sub>MMP9</sub> ( $p=0,013$ ), 6A\_9A<sub>TGFBR1</sub>/- 1575AA<sub>MMP2</sub> ( $p=0,005$ ).

- проведен анализ данных полноэкзомного секвенирования, который показал, что редкие варианты нуклеотидной последовательности могут вносить вклад в проявление ретинопатии недоношенных (rs138792485 гена *TLR6*, p.Gln101Ter гена *TIRAP*, rs104894223 и rs773474310 гена *FZD4*, rs368951368 гена *AGTR1*, rs111513627 гена *EPAS1*, rs80265967 гена *SOD1*).

Выполнение экспериментальных задач работы потребовало от диссертанта освоения широкого перечня современных методов исследования, используемых для молекулярно-генетического анализа, начиная с этапов выделения нуклеиновых кислот, амплификации в режиме реального времени анализируемого полиморфизма с применением праймеров, секвенирования по Сэнгеру, полноэкзомного секвенирования и заканчивая глубокой статистической обработкой полученных результатов. Таким образом, по совокупности таких признаков, как объект, предмет и методы исследования, рассматриваемая диссертационная работа соответствует

специальности 03.01.07 – молекулярная генетика и отрасли «биологические науки», в частности, пунктам: 8. ДНК маркеры; 12. Секвенирование ДНК, генов, геномов; 18. Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных и мультифакториальных заболеваний человека и животных. Генотерапия.

**Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости.**

Работа Малышевой О.М. вносит существенный вклад в развитие представлений о вкладе генетического полиморфизма как отдельных генетических детерминант, так и их совокупности в патогенез синдрома дыхательного расстройства, бронхолегочной дисплазии и ретинопатии. Это обеспечит новый подход к диагностике данных патологий и более корректное определение уровня генетического риска у новорожденных. Для белорусской популяции определены частоты полиморфизмов генов компонентов системы ангиогенеза и тканевого ремоделирования (*VEGFA*, *TGFB1*, *KDR*, *TGFB1*, *MMP2*, *MMP9*), генов компонентов системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести. Автором дана оценка сочетанного взаимодействия аллельных состояний полиморфных генов и установлена прогностическая значимость не только отдельных аллелей генов, но и их сочетаний для оценки предрасположенности развития и тяжести течения синдрома дыхательного расстройства.

Выявлены зависимые от пола различия в ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства. Установлены молекулярно-генетические особенности осложнений перинатального периода, а именно влияние генетической изменчивости белков сурфактанта (SP-B и SP-C) на развитие бронхолегочной дисплазии у новорождённых, а также компонентов ангиогенеза, тканевого ремоделирования и воспаления на развитие ретинопатии недоношенных.

Впервые в Беларуси проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с бронхолегочной дисплазией и ретинопатией со сроком гестации 28–34 недели с использованием сформированной автором 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 *TIRAP* у пациента с ретинопатией недоношенных.

**Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень.**

Руководствуясь пунктами 20–21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, автору диссертационной работы «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолегочной

дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых» Малышевой О.М. может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика за новые научно обоснованные результаты исследования, включающие:

- определение частоты аллелей и генотипов для 18 полиморфных вариантов 8-ми генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFB1*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPВ*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести;

- установление ассоциативной связи между носительством аллеля 256 п.н. маркера D2S388 гена *SFTPВ* ( $p=0,028$ ) и комбинации генотипов 1580СТ<sub>*SFTPВ*</sub>/557АА<sub>*SFTPC*</sub> ( $p=0,019$ ) с тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у новорождённых независимо от пола;

- обоснованность использования полиморфизма генов *SFTPВ* и *SFTPC* в качестве маркеров предрасположенности к респираторным осложнениям у недоношенных детей: варианты 413С>А гена *SFTPC* (независимо от пола); гена *SFTPВ* 1580С>Т (для мальчиков) и - 18А>С (для девочек);

- выявление и описание редких вариантов в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства, а также выявление нового варианта р.Gln101Ter гена *TIRAP* у пациента с ретинопатией недоношенных;

- разработку панели из 88 генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей, которая может быть использована для прогнозирования их течения, а также для выявления генетических маркеров риска в популяции;

- создание коллекции образцов ДНК, выделенных из биологического материала доношенных новорождённых контрольной группы и недоношенных детей с дыхательными осложнениями и ретинопатией и ее передачу в «Республиканский Банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов» (акты от 03.12.2018, 03.12.2018, 09.12.2020 и 17.03.2023) для обеспечения возможности дальнейших молекулярно-генетических исследований осложнений перинатального периода;

- внедрение результатов исследования в медицинскую практику.

**Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.**

Диссертационная работа Малышевой О.М. изложена на 179 страницах и включает введение, общую характеристику работы, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, три главы с результатами исследований и их обсуждением, заключение, библиографический список, три приложения. Материал диссертации изложен грамотно, логично и последовательно. Оформление диссертации и составляющих её отдельных компонентов, а также автореферата соответствует требованиям Инструкции о порядке оформления диссертации, диссертации в виде научного доклада, автореферата диссертации и публикаций по

теме диссертации. Представление экспериментальных данных сопровождается 55 рисунками и 38 таблицами.

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 5 статей, соответствующие пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, 2 статьи в других рецензируемых изданиях, 5 материалов конференций и тезисов докладов, 1 инструкция по применению, 1 учебно-методическое пособие. Объем публикаций составляет 3,6 авторских листа.

Содержание диссертации и автореферата, обзор литературных данных по теме диссертации, выбор исходного экспериментального материала и методов его изучения, спланированный эксперимент, полученные при выполнении работы оригинальные результаты и их подробное обсуждение, достоверность выводов и их соответствие полученным результатам, позволяют судить о высоком уровне научной квалификации и профессиональной компетентности соискателя. Научная значимость полученных результатов, документы, подтверждающие их внедрение в практику (3 акта о внедрении), апробация результатов диссертации на республиканских и международных научных конференциях свидетельствуют о квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук.

Высокий научный уровень диссертационной работы, новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов и их качественное оформление дают основание утверждать о соответствии научной квалификации Малышевой О.М. ученой степени кандидата биологических наук.

### **Рекомендации по практическому использованию результатов диссертации.**

1) Разработанная по результатам исследования и утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению «Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых» (от 30.11.2018 № 136-1118) [13-А] внедрена в клиническую практику отделений анестезиологии и реанимации для новорождённых детей УЗ «Клинический родильный дом Минской области» (акт о внедрении от 21.05.2019), УЗ «1-я городская клиническая больница» (акт о внедрении от 05.12.2019) и образовательный процесс на кафедре неонатологии и медицинской генетики государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (акт о внедрении от 05.12.2018), а также рекомендуется для использования в других учреждениях Министерства здравоохранения для профилактики бронхолёгочной дисплазии.

2) Методическое пособие «Молекулярно-генетические аспекты развития у недоношенных детей бронхолёгочной дисплазии, ретинопатии, лейкомаляции головного мозга» [14-А] рекомендуется к использованию в сфере дополнительного образования и повышения квалификации для врачей-педиатров-неонатологов, врачей-педиатров, врачей-анестезиологов-реаниматологов, врачей-генетиков.

3) 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» (акты от 03.12.2018,

03.12.2018, 09.12.2020 и 17.03.2023) и рекомендуется к использованию для дальнейших молекулярно-генетических исследований осложнений перинатального периода.

4) Информационные ресурсы: «База данных молекулярно-генетических характеристик у новорождённых контрольной группы» (от 03.01.2019 №1341917209), «База данных о информационном ресурсе молекулярно-генетических характеристик детей с бронхолёгочной дисплазией и новорождённых с дыхательными расстройствами» (от 21.09.2018 №1341816526), «База данных клинично-метаболических и молекулярно-генетических характеристик пациентов с ретинопатией, бронхолёгочной дисплазией и лейкомаляцией мозга» (от 30.11.2020 №1342023963) рекомендуется использовать в научно-исследовательской работе по изучению генетических факторов, оказывающих влияние на развитие и прогрессирование бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных.

5) Сформированная 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.

Таким образом, результаты, полученные в ходе выполнения данного диссертационного исследования, рекомендуется для использования в учреждениях Министерства здравоохранения для профилактики бронхолёгочной дисплазии, а также к использованию в сфере дополнительного образования и повышения квалификации для врачей-педиатров-неонатологов, врачей-педиатров, врачей-анестезиологов-реаниматологов, врачей-генетиков, также могут быть включены в лекционные курсы высших учебных заведений соответствующего профиля для ознакомления обучающихся с современными представлениями о молекулярно-генетических факторах риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых.

В качестве замечаний по работе нужно отметить следующее:

1) В тексте работы наряду с использованием термина «пол» используется термин «гендерные различия», что является некорректным в контексте данного исследования.

2) В работе не приведены значения частот встречаемости гетероаллельных комбинаций SNP локализованных в пределах одного гена (гаплотипов).

3) Некоторые рисунки (например, рисунок 4 автореферата, рисунки 3.10, 4.3, 4.9 в диссертации) требуют дополнительных пояснений.

4) В диссертации и автореферате встречаются стилистические неточности и оговорки.

Несмотря на приведенные выше замечания, следует отметить, что материал диссертации изложен грамотно, логично и последовательно. Работа написана научным языком, опечатки фактически отсутствуют, а сделанные замечания и выявленные стилистические погрешности не касаются основного существа диссертационной работы, носят частный и рекомендательный характер и не снижают общей высокой оценки работы.

### Заключение

Диссертационная работа Малышевой Ольги Михайловны на тему «Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых» представляет собой завершённое оригинальное и актуальное исследование, основанное на достоверных экспериментальных данных, полученных с использованием комплекса методов, соответствующих мировым стандартам молекулярно-генетического анализа. Диссертация содержит новые научно обоснованные теоретические и экспериментальные данные по частотам и спектру мутационных изменений 8 генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFBI*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести.

Представленная работа соответствует требованиям, предъявленным ВАК к кандидатским диссертациям, а её автор – Малышева О.М. является высококвалифицированным специалистом в области молекулярной генетики и в соответствии с требованиями пунктов 20–21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика за:

- разработку панели из 88 генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей;
- определение частоты встречаемости 18 полиморфизмов 8 генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFBI*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести;
- внедрение результатов исследования в медицинскую практику.

Отзыв составлен на основе всестороннего анализа материалов представленной диссертационной работы, устного доклада соискателя и его ответов на вопросы, и одобрен на научно-методическом семинаре биологического факультета (протокол № 7 от 04.02.2026).

Присутствовали 22 человека, в том числе: к.б.н. Гринев В.В. (14.03.09), к.б.н. Лагодич А.В. (03.01.07), к.б.н. Николайчик Е.А. (03.01.07), к.б.н. Храмцова Е.А. (03.01.07), к.б.н. Губич О.И. (03.01.04), к.б.н. Кулешова Ю.М. (03.02.03), к.в.н. Костюк Н.И. (06.02.02), д.б.н. Буга С.В. (03.02.05, 03.02.08), к.б.н. Феклистова И.Н. (03.02.03), к.б.н. Саваневская Е.Н. (03.03.01), к.б.н. Щаюк А.Н. (03.01.07), к.б.н. Пучкова Т.А. (03.01.06, 03.02.03), к.б.н. Сахвон В.В. (03.02.08), д.х.н. Костюк В.А. (03.01.04), старший преподаватель Лагодич О.В., старший преподаватель Маслак Д.В., старший преподаватель Кучко Л.С., старший преподаватель Коротева Д.О., научный сотрудник Скакун Т.Л., младший научный сотрудник Титова А.Д., лаборант Шонина М.Ю., аспирант Гузова Е.В.

Специалисты по профилю диссертации: к.б.н. Лагодич А.В. (03.01.07), к.б.н. Николайчик Е.А. (03.01.07), к.б.н. Храмцова Е.А. (03.01.07), к.б.н. Щаюк А.Н. (03.01.07).

В голосовании принимали участие 14 человек, в том числе 2 доктора наук и 12 кандидатов наук.

Результаты открытого голосования:

«за» – 14 человек  
 «против» – нет  
 «воздержалось» – нет

*Председатель заседания:*

заведующий кафедрой зоологии  
 биологического факультета  
 Белорусского государственного университета,  
 доктор биологических наук, профессор

С.В.Буга

*Эксперт:*

заведующий кафедрой генетики  
 биологического факультета  
 Белорусского государственного университета,  
 кандидат биологических наук, доцент

А.В.Лагодич

*Секретарь заседания:*

Старший преподаватель кафедры генетики  
 биологического факультета  
 Белорусского государственного университета

О.В.Лагодич

