

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, начальника отдела глаукомы Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации Петрова Сергея Юрьевича на диссертационную работу Какулия Дарьи Михайловны «Генный полиморфизм про- и противовоспалительных цитокинов при первичной открытоугольной глаукоме», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки)

Актуальность избранной темы

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) считается одной из ведущих причин слепоты во всем мире и характеризуется отсроченной диагностикой и неутешительным прогнозом. Показано, что нейровоспаление является одним из ключевых механизмов, способствующих формированию глаукоматозной нейропатии.

Развитие воспалительного ответа, связанного с увеличением внутриглазного давления, приводит к активации различных типов клеток, таких как астроциты, микроглия, периферические лимфоциты в зрительном нерве и/или сетчатке, что сопровождается повышенной продукцией стареющими клетками воспалительных цитокинов и глаукоматозной дегенерацией.

В настоящее время возрастает число исследований, посвященных влиянию полиморфизма генов цитокинов на предрасположенность к развитию первичной открытоугольной глаукомы.

Установлено, что отдельные полиморфизмы способствуют увеличению TNF α , IL1 β , IL10 в стекловидном теле, сетчатке и зрительном нерве, повышая риск развития и прогрессирования ПОУГ. Учитывая широкую

доступность ингибиторов провоспалительных интерлейкинов, одобренных для клинического применения, дальнейшие исследования полиморфизма генов про- и противовоспалительных интерлейкинов и профиля их экспрессии в различных этнических группах при глаукоме представляют интерес.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Полученные данные достоверны и основаны на клиническом материале (56 пациентов в возрасте 50-75 лет с первичной открытоугольной глаукомой II, III и IV стадии) с достаточным количеством наблюдений для проведения статистического анализа. Результаты работы документированы грамотно выполненными таблицами и рисунками. Методы исследования, используемые в работе, современны и достаточно информативны.

В работе использован комплекс современных методов статистической обработки с использованием пакета прикладных программ «Attestat 10.5.1.», «Statistica SPSS», «Калькулятор для расчета статистики». Анализ данных включает достаточный арсенал методов описательной и аналитической статистики с использованием критериев однофакторного дисперсионного анализа, Манна-Уитни, Крускала-Уоллиса, Ньюмена-Кейлса, Данна, критерия χ^2 , корреляционного анализа, анализа шансов. Построение прогностической модели риска развития глаукомы выполнены с применением метода многофакторной логистической регрессии. Для оценки диагностической значимости прогностической модели использовали анализ ROC-кривых. Выводы логически вытекают из содержания работы и отражают суть проведенных исследований. Практические рекомендации конкретизированы и оптимальны для использования лечебными учреждениями здравоохранения. Представленные сведения убедительно свидетельствуют о том, что научные положения, выводы и практические рекомендации, изложенные диссертантом, в полной мере достоверны и обоснованы.

Достоверность и новизна исследования

Автором впервые получены данные о том, что факторами риска развития первичной открытоугольной глаукомы у русских пациентов Юга России являются мутантные аллели *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 512A*, распространенный аллель – *ИЛ-1β-31T*, а также генотипы *308 G/A*, *308 A/A*, - *31T/T*.

Диссертационное исследование свидетельствует о наличии взаимосвязи между полиморфизмом генов интерлейкинов и морфометрическими показателями диска зрительного нерва у больных с первичной открытоугольной глаукомой. Показано, что наименьшая толщина слоя нервных волокон сетчатки определяется у обладателей аллелей *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 512A* и генотипа *ИЛ-1β -31T/T*, минимальные объем и площадь нейроретинального пояса – у резидентов аллеля *ФНО-α 308A*.

В исследовании установлено увеличение уровней *ФНО-α*, *ИЛ-1β* в слезной жидкости при развитой, далекозашедшей и терминальной ПОУГ, коррелирующее с уменьшением толщины слоя нервных волокон сетчатки. Впервые определено, что высокая продукция *ФНО-α* в слезной жидкости у больных с первичной открытоугольной глаукомой выявляется у резидентов аллеля *ФНО-α 308A*, *ИЛ-10 – ИЛ-10 512A*, *ИЛ-1β – генотипа ИЛ-1β-31 T/T*.

Автором предложена прогностическая модель, позволяющая диагностировать первичную открытоугольную глаукому с учетом уровня интерлейкинов и полиморфизма генов интерлейкинов.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Изучение генетических механизмов и их участия в процессах нейровоспаления имеет важное значение для формирования современных знаний о патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. Увеличение таких биомаркеров как *ФНО-α*, *ИЛ-1β*, коррелирующее с морфометрическими показателями диска зрительного нерва, может использоваться для оценки прогрессирования ПОУГ и в качестве

теоретической основы применения генно-инженерной терапии у пациентов с прогрессирующим течением первичной открытоугольной глаукомы.

Выявленные закономерности о предрасположенности к глаукоме у респондентов аллелей *ФНО- α 308A*, *ИЛ-10 512A*, *ИЛ-1 β -31T* свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в других этнических группах и обширных когортах, что позволит формировать группы высокого риска развития глаукомы с применением тактики превентивного профилактического лечения.

Предложенная прогностическая модель позволит улучшить выявление первичной открытоугольной глаукомы на ранних этапах диагностического поиска.

Соответствие диссертации паспорту специальности

По актуальности темы диссертационного исследования, цели и задачам, методам исследования, полученным результатам, свидетельствующим о предиктивной роли провоспалительных интерлейкинов и полиморфизма их генов в развитии первичной открытоугольной глаукомы, новизне и практической значимости для аллергологов-иммунологов, офтальмологов диссертационная работа Какулия Д.М. «Генный полиморфизм про- и противовоспалительных цитокинов при первичной открытоугольной глаукоме» соответствует специальности 3.2.7. Иммунология; направлению исследований «Диагностика, лечение и профилактика иммунозависимых заболеваний».

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 3 опубликованы в журналах, индексируемых в международной базе Scopus, 3 – иные публикации по теме диссертации, 3 – публикации в сборниках материалов международных и всероссийских конференций.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертация состоит из 130 страниц печатного текста, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты исследования и их обсуждение, выводы и список литературных источников, включающий 32 отечественных и 217 международных ссылок. Диссертация содержит 19 таблиц и 48 рисунков.

Введение содержит сведения об актуальности исследования, его целях и задачах, научной новизне, практической значимости, основных положениях, выносимых на защиту, практическом использовании полученных результатов, научных публикациях и апробации работы, объеме и структуре диссертации, ее взаимосвязи с научными программами. Цели и задачи изложены четко и лаконично.

В обзоре литературы представлена современная информация о клеточно-молекулярных механизмах развития первичной открытоугольной глаукомы, системе про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с ПОУГ. Осуществлен анализ клинических и экспериментальных данных, свидетельствующих о целесообразности изучения полиморфизма генов *TNF α* , *IL1 β* , *IL10* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Обзор детальный, полный, легко читается.

Глава "Материалы и методы" построена в соответствии с традиционными принципами и содержит структурированную информацию о пациентах, включенных в исследование, критериях обследования и инструментальной диагностике первичной открытоугольной глаукомы. В разделе представлены методы определения интерлейкинов в слезной жидкости и иммуногенетические методы исследования полиморфизма генов цитокинов. Объем клинического материала (56 пациентов в группе с первичной открытоугольной глаукомой и 30 пациентов в группе сравнения) достаточен для обеспечения объективной оценки результатов исследования. Диагностические методы, применявшиеся в работе, являются современными.

Для обработки результатов исследования выбраны соответствующие методы статистического анализа.

В главе III подробно и последовательно изложены результаты собственных исследований. В разделе 3.1. изучены особенности распределения полиморфных маркеров гена *ФНО-α* у пациентов с ПОУГ. Установлено увеличение доли мутантного аллеля *308A* и генотипов *G308A* и *A308A*. Выявлен высокий уровень экспрессии *ФНО-α* в слезной жидкости, установлена обратная корреляционная взаимосвязь показателей *ФНО-α* и толщины слоя нервных волокон сетчатки. Установлены высокая продукция *ФНО-α*, а также низкие показатели толщины слоя нервных волокон сетчатки, объем и площадь нейроретинального пояса у респондентов аллеля *A* и генотипов *ФНО-α G308A+A308A*.

В разделе 3.2. исследованы уровни экспрессии *ИЛ-1β* в слезной жидкости пациентов с ПОУГ и полиморфизмы гена *ИЛ-1β (-31 T>C)*. Выявлено преобладание дикого аллеля *-31T* и гомозиготного по мажорному аллелю генотипа *-31T/T* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Наименьшая толщина слоя нервных волокон регистрировалась у пациентов с генотипом *ИЛ-1β (-31) T/T*. Показано увеличение *ИЛ-1β* в слезной жидкости пациентов с ПОУГ, коррелирующее с толщиной слоя нервных волокон сетчатки и не зависящее от стадии глаукомы. Выявлено закономерное нарастание *ИЛ-1β* в слезной жидкости больных ПОУГ, являющихся респондентами аллеля *-31T* и генотипа *-31T/T*.

В разделе 3.3. показаны особенности синтеза *ИЛ-10* и полиморфизма *IL10 512 C>A* при ПОУГ. Среди полиморфных вариантов гена *ИЛ-10* чаще определялись редкий аллель *512A* и генотипы *A512A + C512A*. Показано увеличение *ИЛ-10* у резидентов аллеля *512A* и обладателей генотипов *A512A* и *C512A*. У респондентов генотипов *A512A* и *C512A* регистрировалось уменьшение толщины нервных волокон сетчатки. Показатели *ИЛ-10* в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ оказались сопоставимы с группой

сравнения и не коррелировали с морфометрическими характеристиками диска зрительного нерва.

В разделе 3.4. автором сформирована прогностическая математическая модель, позволяющая диагностировать ПОУГ на ранних этапах диагностического поиска. Показатели AUC оказались равными 0,93, что свидетельствует об отличном качестве модели. Прогноз ПОУГ совпадал с реальным диагнозом глаукомы в 89,7% случаев.

В главе "Заключение" обобщены полученные автором результаты в виде дискуссии и сравнения с доступными данными отечественных и зарубежных публикаций. Выводы четко сформулированы и отражают решение поставленных вопросов и достижение целей исследования. Даны практические рекомендации для аллергологов-иммунологов и офтальмологов по прогнозированию развития глаукомы и использованию методов ее профилактики в реальной клинической практике.

Таким образом, достаточное количество больных, высокий уровень использованных методов, тщательная современная статистическая обработка полученных данных обеспечили высокую достоверность полученных автором результатов. Результаты исследования свидетельствуют о том, что предложенная математическая модель может использоваться для диагностики ПОУГ. Индивидуальные генетические различия, определяющие продукцию цитокинов, могут быть вовлечены в патогенез прогрессирующего глаукомного процесса и должны учитываться в терапии и профилактике первичной открытоугольной глаукомы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат в полной мере отражает основные положения, результаты диссертации, выводы и практические рекомендации и выполнен в соответствии с требованиями ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К достоинствам работы следует отнести тщательно продуманный дизайн исследования, детальный и полный обзор литературы, последовательный анализ полученных результатов и их сравнение с данными российских и зарубежных исследовательских центров. Принципиальных замечаний к работе нет. В работе имеются незначительные опечатки.

При прочтении работы возник ряд вопросов, которые носят уточняющий характер:

1. Почему в качестве объекта исследования были выбраны полиморфизмы *ФНО- α* , *ИЛ-1 β* , *ИЛ-10* и уровень их содержания в слезной жидкости? Как осуществлялся забор слезной жидкости?

2. Почему в математическую модель прогнозирования глаукомы включены показатели ВГД, содержание *ФНО- α* , *ИЛ-1 β* в слезной жидкости и наличие у пациента генотипа *ИЛ-1 β* , гомозиготного по распространенному аллелю *T*? Как Вы определяли чувствительность и специфичность модели?

Заключение

Диссертационная работа Какулия Дарьи Михайловны «Генный полиморфизм про- и противовоспалительных цитокинов при первичной открытоугольной глаукоме» является завершенным квалификационным научным исследованием, выполненным автором, содержащим новое решение актуальной задачи – определение патогенетической роли провоспалительных интерлейкинов и генного полиморфизма в предрасположенности к развитию нейровоспаления и глаукомной нейропатии, имеет существенное значение для врачей аллергологов-иммунологов и офтальмологов.

По актуальности, глубине, объему проведенных исследований, а также научно-практической значимости диссертация Какулия Дарьи Михайловны «Генный полиморфизм про- и противовоспалительных цитокинов при первичной открытоугольной глаукоме» соответствует требованиям п. 16

Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными приказом № 1179/Р от 29.08.2023 г., приказом № 0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

Начальник отдела глаукомы

ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава РФ,

Доктор медицинских наук

«15» 07 2025 г.

Петров

С.Ю. Петров

«ЗАВЕРЯЮ»:

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава РФ,

кандидат медицинских наук



Орлова

Е.Н. Орлова

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца" Министерства здравоохранения РФ.
105062, Москва, ул. Садовая-Черногрязская 14/19.
Тел. +7(495) 625-87-73; E-mail: kanc@igb.ru
<https://igh.ru/>