

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

*доктора медицинских наук, профессора Маркеловой Елены Владимировны 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**

Глаукома занимает лидирующее место в мире среди причин необратимой потери зрения и характеризуется значительной распространенностью, тенденцией к увеличению заболеваемости, трудностями в ранней диагностике и лечении.

Первичную открытоугольную глаукому относят к хроническим нейродегенеративным заболеваниям с прогрессирующей гибелью ганглиозных клеток сетчатки и аксонов зрительного нерва, что сопровождается утратой зрительной чувствительности. Развитие воспалительного ответа, инициированного повышением внутриглазного давления, характеризуется заметной активацией резидентных иммунных клеток, микроглии и периферических лейкоцитов, а также увеличением синтеза провоспалительных цитокинов, способствующих развитию деструктивных процессов в ганглиозных клетках сетчатки.

Ряд фундаментальных исследований, выполненных в мире, свидетельствует о важной роли провоспалительных цитокинов в развитии глаукомной дегенерации. Экспериментально установлена и подтверждена в клинике роль ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-2 в качестве основных эффекторов нейротоксичности.

В рамках генной диагностики и прогнозирования первичной открытоугольной глаукомы значительный интерес представляет функциональный полиморфизм генов основных оппозитных цитокинов. Таким образом, диссертационная работа Какулия Д.М., посвященная изучению полиморфных маркеров генов ФНО- $\alpha$  ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 при первичной открытоугольной глаукоме является актуальной и своевременной.

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

Полученные автором данные достоверны, их основой является клинический материал с достаточным для проведения статистического анализа количеством наблюдений – 56 пациентов в возрасте от 50 до 75 лет с первичной открытоугольной глаукомой II, III и IV стадии.

Результаты работы документированы грамотно выполненными таблицами и рисунками. Методы исследования, используемые в диссертации, современны и достаточно информативны. В работе использован комплекс методов статистической обработки (программ «Statistica SPSS 6,0», «Primer of Biostat 5,0»). Для констатации статистически значимых межгрупповых различий применены адекватные для обследуемых групп критерии: Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, Данна. Степень риска развития первичной открытоугольной глаукомы определен с помощью метода отношения шансов. Построение прогностической модели риска развития глаукомы выполнено посредством метода многофакторной логистической регрессии. Для оценки диагностической значимости прогностической модели использован анализ ROC-кривых. Полнота и глубина собранного материала в достаточной мере обосновывают выводы, вытекающие из полученных автором диссертации результатов.

### **Достоверность и новизна исследования**

Установлена патогенетическая роль полиморфизма генов рецепторов интерлейкинов *ИЛ-1 $\beta$  31 C>T* (rs1143627); *ФНО- $\alpha$  308 G>A* (rs1800629) и *ИЛ-10 512 C>A* (rs1800872) в развитии первичной открытоугольной глаукомы. Выявлено, что молекулярно-генетическими предикторами развития первичной открытоугольной глаукомы является наличие мутантных аллелей *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 512A*, распространенного аллелем – *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипов *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T*. Показано уменьшение риска развития глаукомы у резидентов *ФНО- $\alpha$  308G*, *ИЛ-10 512C* *ИЛ-1 $\beta$  -31C* и генотипов *ФНО- $\alpha$  308 G/G*, *ИЛ-10 512 C/C*.

Установлена взаимосвязь между полиморфизмом генов исследованных цитокинов и содержанием ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10 в слезной жидкости.

Выявлена зависимость морфометрических показателей диска зрительного нерва от уровня ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10, а также полиморфизмов *ИЛ-1 $\beta$  31 С/Т*, *ФНО- $\alpha$  308 G/A*, *ИЛ-10 512 С/A*.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Увеличение таких биомаркеров, как ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости, коррелирующее с морфометрическими показателями диска зрительного нерва, свидетельствует о важной роли провоспалительных интерлейкинов в развитии оптической нейропатии и может использоваться для оценки прогрессирования первичной открытоугольной глаукомы, а также в качестве теоретической основы применения генно-инженерной терапии при быстро прогрессирующих вариантах заболевания. Выявленные закономерности между носительством аллелей *ФНО- $\alpha$  308A*, *ИЛ-10 512A*, *ИЛ-1 $\beta$  -31T*, а также генотипов *308 G/A*, *308 A/A*, *-31T/T* и риском развития глаукомы позволяют формировать группы высокого риска развития глаукомы с применением тактики превентивного профилактического лечения у их респондентов. Предложенная прогностическая модель позволит улучшить выявление первичной открытоугольной глаукомы на ранних этапах диагностического поиска и совершенствовать современную тактику персонализированной таргетной терапии.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

По актуальности избранной темы, научным цели и задачам, направленным на определение прогностического значения генного полиморфизма исследованных цитокинов при первичной открытоугольной глаукоме; по методам исследования, применяемым в иммунологии; новизне и научно-практической значимости полученных результатов исследования для клинических 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 п.5 «Изучение иммунопатогенеза иммуноопосредованных и других заболеваний», п. 6 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики других иммунопатологических процессов».

### **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**

Работа изложена на 130 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и списка источников литературы, включающего 32 отечественных источников и 217 зарубежных публикаций. Диссертационное исследование содержит 19 таблиц и 48 рисунков.

Введение содержит сведения об актуальности, цели и задачах исследования, научной новизне, практической значимости, основных положениях, выносимых на защиту, практическом использовании полученных результатов, публикациях и апробации работы, объеме и структуре диссертации, связи с научными программами. Цель и задачи сформулированы четко и лаконично.

В главе 1 «Обзор литературы» осуществлен анализ современных данных об иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы, механизмах дегенерации ганглиозных клеток сетчатки и прогрессировании оптической нейропатии. Детально обсуждена роль про- и

противовоспалительных цитокинов, а также полиморфизма генов *TNF $\alpha$* , *IL1 $\beta$* , *IL10* в иммунопатологии первичной открытоугольной глаукомы. Каждый раздел завершается освещением круга нерешенных вопросов, ответы на которые дают результаты собственных исследований автора.

Глава «Материалы и методы» построена по традиционному принципу и содержит структурированную информацию о включенных в исследование пациентах, критериях инструментальной диагностики первичной открытоугольной глаукомы, методах определения интерлейкинов в слезной жидкости, а также молекулярно-генетических методах оценки полиморфных маркеров генов цитокинов, используемых автором в диссертационном исследовании. Объем клинического материала (56 образцов крови и 107 образцов слезной жидкости пациентов с ПОУГ) достаточен для обеспечения объективной оценки результатов исследования. Диагностические методы, применявшиеся в работе, являются современными. Для обработки результатов исследования выбраны адекватные методы статистического анализа.

Глава «Результаты исследования» состоит из четырех частей. В разделе 3.1 представлены показатели экспрессии ФНО- $\alpha$  в слезной жидкости, изучен полиморфизм гена ФНО- $\alpha$  (-308 G>A). Выявлено повышение уровня ФНО- $\alpha$  при развитой, далекозашедшей и терминальной глаукоме, установлено увеличение риска развития глаукомы при показателях ФНО- $\alpha$ , превышающих 165 пкг/мл. Показана отрицательная корреляционная взаимосвязь средней силы между уровнем ФНО- $\alpha$  и толщиной слоя нервных волокон сетчатки. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой русской национальности показано преобладание мутантного аллеля 308A и генотипов G308A и A308A. Установлены высокая продукция ФНО- $\alpha$ , а также низкие показатели толщины слоя нервных волокон, объем и площадь нейроретинального пояса у респондентов аллеля A и генотипов ФНО- $\alpha$  G308A+A308A.

В разделе 3.2 показаны результаты определения уровня ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости пациентов с ПОУГ и полиморфизма гена *ИЛ-1 $\beta$*  (-31 T>C). Автором показан высокий уровень ИЛ-1 $\beta$  в слезной пленке, не зависящий от стадии развития глаукомы. Установлена умеренная отрицательная взаимосвязь между уровнем ИЛ-1 $\beta$  и толщиной слоя нервных волокон. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой чаще, чем в группе сравнения встречался распространенный аллель -31T и гомозиготный по мажорному аллелю генотип -31T/T. Установлено увеличение ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости больных ПОУГ, являющихся носителями аллеля -31T и генотипа -31T/T. Наименьшая толщина слоя нервных волокон определена у пациентов с генотипом *ИЛ-1 $\beta$*  (-31) T/T.

Раздел 3.3 посвящен изучению показателей ИЛ-10 и полиморфных вариантов *ИЛ10 512 C>A*. Не выявлено увеличения уровня ИЛ-10 в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Не установлено корреляционной взаимосвязи между уровнем ИЛ-10, показателями внутриглазного давления, а также когерентной томографии (СНВС, VНРП, SНРП). У пациентов с ПОУГ выявлено преобладание мутантного аллеля 512A и увеличение риска развития заболевания у обладателей аллеля 512A и генотипов A512A + C512A. Показано увеличение ИЛ-10 у резидентов аллеля 512A и обладателей генотипов A512A и C512A. Наиболее низкие показатели средней толщины нервных волокон сетчатки определялись у респондентов генотипов A512A и C512A.

В разделе 3.4 автором предложена математическая модель прогнозирования первичной открытоугольной глаукомы. Чувствительность полученной модели составила 90,7%, специфичность – 88,1%, положительная предсказательная ценность – 95%, отрицательная предсказательная ценность – 78%. Рисунки и таблицы, представленные в главе «Собственные результаты», включают критерии статистической обработки полученных данных, что свидетельствует о достоверности сделанных на их основе выводов и научных положений.

В главе «Заключение» объединены полученные автором результаты в формате сопоставления с данными отечественных и зарубежных публикаций.

Выводы сформулированы четко и отражают решение поставленных задач и достижение цели исследования. Практические рекомендации могут быть использованы в клинической практике аллерголога-иммунолога и офтальмолога для прогнозирования развития глаукомного процесса и использования методов профилактики ПОУГ.

Таким образом, дизайн исследования, его методический уровень, обоснование объектов изучения, позволили автору сформулировать убедительные выводы и рекомендации, отражающие решение поставленных задач в достижении цели работы. Результаты диссертационного исследования расширяют представление о патогенетическом значении полиморфизма генов цитокинов, участвующих в развитии и прогрессировании нейровоспаления у пациентов с 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 образования России.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

К достоинствам диссертационного исследования следует отнести ее практическую направленность, современность и полноту литературного обзора, детальную трактовку полученных результатов, связанное, логичное изложение материала. Принципиальных замечаний по работе нет, в тексте диссертации имеются стилистические ошибки и неудачные выражения, что не умаляет ее научно-практической значимости.

При прочтении работы возник ряд уточняющих вопросов, которые носят дискуссионный характер:

1. Как можно объяснить полученные в работе корреляции между морфометрическими показателями диска зрительного нерва и полиморфизмами генов *ИЛ-1 $\beta$* , *ФНО- $\alpha$* , *ИЛ-10*?

2. Почему в математическую модель прогнозирования глаукомы включены показатели ВГД, содержание ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  в СЖ и наличие у пациента генотипа ИЛ-1 $\beta$ , гомозиготного по распространенному аллелю Т? Почему для определения чувствительности и специфичности модели использовали ROC-анализ?

### **Заключение**

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

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 3.1.7. Иммунология (медицинские науки).

**Официальный оппонент:**

Доктор медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология (по действующей номенклатуре – 3.2.7. Иммунология) и 14.00.43 (3.1.29) – пульмонология, профессор, заведующий кафедрой нормальной и патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Маркелова Елена Владимировна.

Дата «21» мая 2025 г.

Подпись \_\_\_\_\_

Подпись Маркеловой Елены Владимировны заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

690002, Российская Федерация, Приморский край, г. Владивосток, Проспект Острякова, дом 2, тел.: +7 (423) 242-97-78, e-mail: [mail@tgm.ru](mailto:mail@tgm.ru), [markelova.ev@tgm.ru](mailto:markelova.ev@tgm.ru) сайт: <https://tgm.ru>