

ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора
Полоникова Алексея Валерьевича на диссертационную работу Жанина
Ильи Сергеевича «Профиль экспрессии микроРНК и генов-мишеней при
нарушениях мозгового кровообращения в эксперименте и клинике»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальностям 03.02.07 – Генетика и 14.03.03 – Патологическая
физиология**

Актуальность темы диссертационного исследования

Инсульт, в первую очередь ишемический инсульт (ИИ), является одной из ведущих причин смерти и инвалидизации населения во всем мире, в том числе и в Российской Федерации. Изучение генетических факторов, имеющих патогенетическое значение для возникновения и течения ИИ, выявление новых молекулярных мишеней и подходов к лечению болезни, несомненно, представляет собой актуальную задачу, не только с фундаментальной точки зрения, но и с точки зрения практической медицины. На настоящий момент в мире проведено незначительное количество исследований, посвященных изучению экспрессии мкРНК при нарушениях мозгового кровообращения, как в эксперименте, так и в клинике. В этой связи диссертационное исследование Жанина Ильи Сергеевича, посвященное изучению изменений в профилях экспрессии мкРНК и их генов-мишеней при ишемическом повреждении головного мозга на экспериментальной модели крыс и у пациентов с ишемическим инсультом, представляет значительный интерес. Использование

комплексного подхода, реализованного в рамках диссертационной работы, позволяет глубже проникнуть в молекулярные звенья патогенеза ИИ и выявить не только новые клинически значимые биомаркеры поражения головного мозга, необходимые для ранней диагностики ИИ и мониторинга его течения, но и установить новые мишени для таргетной и персонализированной терапии болезни.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность как научноквалификационной работы

Целью диссертационной работы Жанина И.С. стало проведение сравнительного анализа профилей экспрессии мкРНК и соответствующих генов-мишеней в ткани мозга и крови крыс с фокальной ишемией мозга и у больных в острый период ИИ. В задачи исследования входили: определение спектра дифференциально экспрессирующихся мкРНК среди всего пула мкРНК в биоптате мозга и крови крыс в динамике острого периода фокальной ишемии мозга; изучение профиля экспрессии мкРНК в крови у пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения.

Диссертационная работа структурирована традиционно и изложена на 116 страницах печатного текста; состоит из введения, обзора литературы, основанного на анализе 163 источников (7 публикаций отечественных и 156 публикаций иностранных авторов), материалов и методов исследования, глав результатов и обсуждения собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 14 рисунками.

В разделе «Введение» диссертант обосновывает актуальность темы исследования, степень ее разработанности, новизну и практическую значимость, формулирует цель и задачи исследования.

В обзоре литературы диссертантом освещаются современные представления об этиологии и патогенезе инсульта, роли генетических

факторов в его возникновении. Также представлена детальная характеристика мкРНК, включая их классификацию, биогенез и потенциальную роль в развитии нарушений мозгового кровообращения. При анализе литературных данных автор ссылается на авторитетные источники, большая часть которых – статьи в зарубежных журналах.

В главе «Материалы и методы» представлена характеристика материалов - групп экспериментальных животных (крыс линии Wistar) и пациентов с ишемическим инсультом и дизайн исследования, описаны методы молекулярно-генетического анализа для определения уровня мкРНК и генов-мишеней в биологических образцах, методы статистического анализа.

В главе «Результаты» автором детально описаны все полученные результаты, начиная с данных по оценке экспрессии мкРНК и их генов-мишеней в ишемизированном и контрлатеральном полушарии животных, а также в крови экспериментальных животных через 24 и 48 часов после ишемии, до результатов, изменения в экспрессии мкРНК в плазме крови больных инсультом в сравнении с контрольной группой. Диссертантом определены паттерны изменения экспрессии мкРНК и их генов-мишеней в результате ишемического повреждения мозга. Впервые установлены межполушарные различия в индуцированной ишемией экспрессии целого ряда мкРНК. В частности, установлено увеличение экспрессии анти-апоптотических генов (*BCL2L1*, *BCL2L2*, *BCL2*) в контрлатеральном полушарии по сравнению с ишемизированном. При сравнении профилей экспрессии мкРНК, выделенных из плазмы крови пациентов и здоровых волонтеров были обнаружены прогностически значимые изменения уровня мкРНК *let-7i-3p* и *miR-23a-3p*, которые могут рассматриваться в качестве биомаркеров развития ИИ. В главе «Обсуждение» автор сопоставляет полученные результаты с литературными данными, приводит собственные суждения относительно природы изменений в экспрессии мкРНК и их таргетных генов на фоне ишемического повреждения мозга. Стоит отметить, что диссертационная работа, выполненная на основе экспериментальных и клинических данных, имеет значимость не только для

фундаментальной науки, но и для практической медицины, другими словами приближает нас к решению важнейшей проблемы – имплементации результатов исследования в клиническую практику. В разделе “Заключение” автор обобщает результаты, полученные на всех этапах проведенного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность научных положений, выводов, рекомендаций, представленных в диссертации, базируется на глубоком анализе литературных данных, использовании комплекса общеизвестных и широко применяемых в экспериментальной медицине и молекулярной генетике методик, сертифицированного оборудования, качественных реактивов и расходных материалов, достаточного количества экспериментальных животных, грамотном применении адекватных статистических методов анализа данных. Выводы, научные положения и практические рекомендации логичны и вытекают из полученных в ходе выполнения диссертационного исследования результатов.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность результатов диссертационной работы определяется достаточным объемом материала, который требуется для экспериментальных исследований такого дизайна, корректно отобранными мкРНК и генами-мишенями для исследования, применением современных молекулярно-генетических методов, качественно проведенным статистическим анализом данных, что позволило получить обоснованные положения и выводы. До настоящего времени детально не исследованы временные паттерны экспрессии мкРНК, участвующих в патогенезе ишемии и практически отсутствуют

исследования, которые объединяли бы экспериментальные и клинические подходы к изучению данной проблемы. В данной работе применен комплексный подход к решению вопроса роли мкРНК в патогенезе и исходе ишемического инсульта: проведено исследование, как на лабораторных животных, так и на клинических образцах плазмы крови больных с инсультом. Результаты исследования открывают перспективы использования мкРНК let-7i-3p и miR-23a-3p в качестве потенциальных биомаркеров ИИ на первые сутки после поражения, а также miR-223-3p и miR-99a-5p в качестве прогностического фактора ухудшения неврологического статуса. Впервые была показана разница в экспрессии мкРНК в ишемизированном и «интактном» контрлатеральном полушарии мозга крыс при нарушении мозгового кровообращения.

Общие вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В тексте диссертации имеется незначительное число опечаток. В процессе рецензирования работы возникли некоторые замечания и вопросы к диссертанту:

Замечания:

1. Для сравнения уровня экспрессии мкРНК в плазме крови больных ишемическим инсультом диссертант использовал контрольную группу здоровых добровольцев, однако исходя из клинической характеристики группы, в нее были включены пациенты, страдающие другими заболеваниями, такими как сахарный диабет и артериальная гипертензия. Насколько это было правомочно.

2. В параграфе 3.1 главы результатов исследования первый абзац, описывающий процедуру оценки стабильности мкРНК, целесообразнее было представить в разделе материалов и методов.

Вопросы:

1. Как можно объяснить пол-специфические изменения экспрессии мкРНК let-7i-5p и miR-92b-3p при ишемическом инсульте?
2. Могли бы Вы обозначить общие тенденции в изменении уровня мкРНК в крови ишемизированных крыс и пациентов с ИИ (к примеру, miR-99a-5p или, возможно, не конкретных мкРНК, а функционально различных мкРНК, таких как анти- и про-апоптотические мкРНК)?
3. Почему в отдельных случаях изменения экспрессии мкРНК (miR-30a-3p, miR-30c-5p, miR-99a-5p, miR-107-3p и miR-221-3p) в мозге были отсрочены относительно изменений в лейкоцитах, хотя и были однонаправленными?

Высказанные замечания не носят принципиального характера и никоим образом не снижают ценности и новизны результатов выполненного исследования. Диссертационная работа производит благоприятное впечатление, написана хорошим литературным языком. Материалы и используемые диссертантом методы современны и полностью соответствуют целям и задачам исследования. Сама идея работы, её клинико-генетическая направленность, а также комплексный всесторонний подход к изучению молекулярных аспектов патогенеза инсульта – все это указывает на высокий научно-методический уровень выполненного диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Жанина И.С. «Профиль экспрессии микроРНК и генов-мишеней при нарушениях мозгового кровообращения в эксперименте и клинике» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решены поставленные задачи, имеющие существенное значение для медицинской генетики и патологической физиологии и расширяют представления о молекулярных механизмах патогенеза ишемического инсульта и обозначают новые подходы к его ранней диагностики и лечению. По актуальности темы, научному уровню теоретической значимости полученных

результатов диссертационная работа Жанина Ильи Сергеевича полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 года (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г.), а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.07 – Генетика и 14.03.03 – Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук (специальность 03.02.07 - генетика), профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России)



Полоников Алексей Валерьевич

305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3, тел.: +7-4712-588147, E-mail: polonikov@rambler.ru, Сайт университета: <https://kurskmed.com/>

Подлинность подписи профессора Полоникова А.В. заверяю.

Ученый секретарь
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России
Доктор биологических наук, доцент



Медведева О.А.

«14» февраля 2020 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3, Телефон: (4712) 58-81-32, E-mail: kurskmed@mail.ru.