

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Винер Марианны Евгеньевны на тему: «Патофизиологическое обоснование применения таргетных методов лечения моногенных заболеваний сетчатки», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.03 - Патологическая физиология, 14.01.07 – Глазные болезни

1. Актуальность избранной темы

В диссертационной работе М.Е. Винер рассматриваются важнейшие вопросы, связанные с проблемой наследственных моногенных заболеваний сетчатки, которые широко распространены в современном обществе. В основе моногенных заболеваний лежат мутации в одном гене – «точковые мутации». Моногенные заболевания сетчатки представляют собой группу порядка 300 разнородных по клиническим проявлениям изолированных или синдромальных заболеваний, которые объединены схожими механизмами развития – повреждением одного из звеньев фототрансдукции или целостности клеток фоторецепторов, а также клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ) и Мюллеровой глии. Пигментный ретинит (ПР) является наиболее частой и разнородной формой моногенных заболеваний сетчатки и приводит к необратимому нарушению зрения и неизлечимой слепоте. Таким образом, актуальность избранной диссертантом темы вызвана широким распространением дистрофий сетчатки (главным образом наследственных) в современном обществе в совокупности с поиском эффективных методов диагностики и лечения. При отсутствии лечения моногенные заболевания сетчатки прогрессируют, приводят к полной слепоте и тяжёлой инвалидности. Точных эпидемиологических данных встречаемости этой группы заболеваний в России до текущего момента не было опубликовано. Проведенное М.Е. Винер исследование, целью которого является изучение эпидемиологии моногенных заболеваний сетчатки в России (главным образом с изолированным и синдромным ПР и колбочковой дистрофией), является важным как для мониторинга этих заболеваний, так и для проведения своевременного лечения. Внедрение в клиническую практику алгоритмов своевременной дифференциальной диагностики, определение возможной перекрестной эффективности имеющихся терапевтических

препаратов и применение таргетного лечения является одним из важнейших направлений медикаментозного лечения моногенных заболеваний глаз и представляется актуальным для патологической физиологии, клинической офтальмологии и генетики.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа М.Е. Винер представляет собой экспериментальное исследование с использованием молекулярно-генетических подходов для дифференциальной диагностики наследственных заболеваний сетчатки и применения таргетного лечения. Целью исследования автора явилась разработка методов патогенетического лечения моногенных заболеваний сетчатки на основе изучения этиологии и патогенеза этих заболеваний у российских пациентов, что автором было сделано впервые. Сформулированные соискателем задачи соответствуют цели исследования, выводы отражают решение поставленных автором задач. Основные положения, выносимые на защиту, адекватно формулируют наиболее значимые теоретические закономерности, установленные автором. Обоснованность положений, выводов, сформулированных в диссертации, вытекает из применения современных офтальмологических, генетических, электрофизиологических, лабораторных и статистических методов, достаточного объема исследований, адекватной оценки и интерпретации полученных результатов.

3. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором был изучен и систематизирован спектр мутаций, характерный для российской популяции пациентов с моногенными заболеваниями сетчатки и дана характеристика особенностей этих мутаций. В исследовании было выявлено и описано 54 новых мутаций.

Достоверность результатов, сформулированных положений и выводов подтверждена достаточным объемом проведенных исследований, использованием современных методов исследования, а также статистической обработкой полученных результатов, полнотой литературно-

библиографической справки, глубоким и аргументированным анализом полученных результатов. Статистическая обработка результатов проведена с использованием непараметрических критериев Уилкоксона, Манна-Уитни, Фишера, Краскела-Уоллиса, расчетов коэффициента детерминации, наряду с применением параметрических статистических критериев Стьюдента, одно- и двухфакторного анализа ANOVA. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использован коэффициент корреляции Спирмена и Пирсона. Автором предложен и использован в исследовании алгоритм дифференциальной диагностики, впервые изучен клинический эффект таргетных методов лечения с описанием механизма воздействия используемых препаратов и молекул у пациентов с моногенными заболеваниями сетчатки, в сравнении с контрольной группой традиционного лечения и лечения стволовыми клетками. В экспериментальных условиях проведена комплексная оценка изменений зрительных функций до и после применения генотерапевтического таргетного лечения по сравнению со стандартным лечением. Автором впервые в России показано, что применение таргетного лечения кратно повышает эффективность сохранения и восстановления зрительных функций у пациентов с моногенными заболеваниями сетчатки. Представлены сведения об особенностях взаимосвязей между показателями объективных и субъективных методов оценки зрения, ориентации в пространстве и как следствия качества жизни пациентов. Автором было проведено отслеживание побочных эффектов применяемого лечения, не превышающих 2-18%.

По результатам исследований подана 1 заявка на патент РФ на изобретение и зарегистрировано 1 ноу-хау.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты диссертации имеют фундаментальное значение. В исследовании М.Е. Винер представлены данные результатов культивирования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных из фибробластов пациентов с известными мутациями в генах, участвующих в процессах фототрансдукции. Данные результаты могут применяться в неограниченном числе моделей заболевания без

использования животных клеточных линий, что даст возможность моделировать заболевание непосредственно на клеточных линиях самого пациента. Это ускорит проверку гипотез разрабатываемой терапии и выход на этап доклинических исследований.

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Данные, полученные в диссертационном исследовании, представляют интерес для широкого круга специалистов: физиологов, патофизиологов, офтальмологов, генетиков и могут быть рекомендованы для использования в работе научно-исследовательских центров и лабораторий, занимающихся проблемой офтальмогенетики. Полученные автором результаты существенно расширяют представления о патогенезе моногенных заболеваний сетчатки. Полученные данные могут использоваться в педагогической деятельности теоретических и клинических кафедр медицинских ВУЗов.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Диссертация изложена на 277 страницах, содержит 44 таблицы и 77 рисунков, и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, семи глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка используемой литературы. Список литературы включает 370 источника (23 – отечественных и 347 – зарубежных авторов).

Во введении изложена актуальность избранной темы, сформулированы цель и задачи, научная новизна и ее практическая значимость, положения, выносимые на защиту, которые в полной мере отражают содержание диссертации. Приведены сведения о личном вкладе автора, апробации основных результатов исследования, их внедрении и полноте представления в публикациях.

В литературном обзоре представлены современные данные о видах, распространенности и осложнениях моногенных заболеваний сетчатки, а также подходы к их диагностике и дифференциальной диагностике, наряду с систематизированным описанием методов существующего лечения и направлений исследования в этой области. Сделан акцент на роли своевременного диагностирования и начала лечения как залого успеха в сохранении зрения и предотвращения инвалидности. Подробно описаны

многочисленные методы оценки зрительных функций, когда отслеживаемые изменения зрения требуют более точных критериев. Представлены интересные сведения о развитии области индуцированных плюрипотентных стволовых клеток как возможной альтернативе животным моделям с кратным повышением точности проводимых исследований. Проведенный анализ отечественных и зарубежных литературных источников явился логической базой для проведения собственного исследования и критической интерпретации его результатов.

В главе «Объекты и методы исследования» автором обоснован выбор объектов и методов исследования для изучения изменений зрительных функций до и после таргетного и стандартного лечения моногенных заболеваний сетчатки, подробно описаны методические подходы *in vivo* и *in vitro* и методы статистического анализа, использованные в работе.

В главе «Диагностика и разделение на группы» обоснована стратификация пациентов для сравнения результатов лечения.

В главе «Результаты лечения» представлены результаты сравнительной оценки функционального состояния сетчатки, анатомической структуры сетчатки, субъективных результатов лечения по оценке самих пациентов и системные эффекты от лечения. С использованием корреляционного анализа продемонстрирована важная роль многофакторного анализа полученных результатов лечения вследствие генной терапии. Проведено статистическое сравнение частоты кистоидного макулярного отека у пациентов с моногенными заболеваниями сетчатки как одного из наиболее частых и неприятных осложнений и методы его лечения в сравнении в разных группах пациентов. Также уделено должное внимание анализу побочных эффектов и осложнений лечения и обсуждению в отдельной главе возможного плейотропного эффекта генотерапевтических препаратов, когда воздействием таргетным геном на одно из звеньев фототрансдукции можно добиться активации или ингибирования другого звена, что может иметь положительный эффект у пациентов с другими формами дистрофий сетчатки. Сделан акцент на то, что разные типы заболевания характеризуются разными типами наследования и требуют особых методов лечения. Это применение антисмысловых олигонуклеотидов и системы

молекулярных ножниц CRISPR-Cas при доминантных формах, а также заместительной генной терапии с применением аденоассоциированных вирусных векторов в качестве метода доставки необходимой последовательности ДНК в клетки при рецессивных формах заболеваний. Кроме того, важную роль автор уделяет подробному анализу группы пациентов с моногенными дистрофиями сетчатки, причиной которых является патология в сигнальных белках или транскрипционных факторах в отличие от патологии структурных белков, так как требуются различные подходы к лечению этих типов заболеваний.

В заключительном разделе диссертационной работы автором проведено обобщение результатов исследования, их обсуждение с дополнительной дискуссией некоторых положений, подчеркивающих обоснованность сформулированных выводов. Этот раздел написан лаконично, с привлечением литературных данных при обсуждении собственных результатов и свидетельствует о высокой профессиональной эрудиции диссертанта. Результаты диссертационного исследования сформулированы в 7 выводах, которые соответствуют цели и задачам исследования и в полной мере соответствуют полученным результатам.

Автореферат отражает все разделы и положения диссертации, резюмирует полученные результаты.

Автор имеет 27 опубликованных работ по теме диссертации, из которых 13 – в научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации, 1 заявка на патент РФ на изобретение. Основные положения диссертации представлены на международных научно-практических конференциях, конгрессах ARVO (США, 2020), ESHG (Берлин, 2020), на семинаре по офтальмогенетике в лаборатории F. Cremers в Nijmegen (Нидерланды, декабрь 2019), на конференции «Пожилой больной качество жизни» (Москва, 2019 г.), в докладе на Федоровских чтениях (Москва, 2018 г), на конференции на съезде генетиков MGNGS (Суздаль, 2018, 2019), на съезде Британского общества генной и клеточной терапии (BSGCT, Лондон, 2018), на встрече CRISPR (США, CSHL 2018 г), на конференции по молекулярной офтальмологии (Москва, октябрь 2018 г.).

7. Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом

При ознакомлении с диссертационной работой возникли следующие замечания. В частности, в разделе «Обзор литературы» встречаются неточные, а порой и искаженные формулировки. К примеру, это касается реснички фоторецепторной клетки, а также межфоторецепторного пространства и межфоторецепторного матрикса.

Результаты, представленные М.Е. Винер в диссертации, разнородны и с трудом поддаются сравнению, в связи с этим количество уточняющих методик оценки зрительных функций и статистическая их обработка занимают значительный объем диссертации. Это можно отчасти оправдать масштабом поднимаемой проблемы и попыткой систематизировать разнородные полученные результаты, что позволяет принять подход, примененный Марианной Евгеньевной в связи с отсутствием на данный момент более оптимального варианта. Список новых впервые выявленных мутаций, ранее не описанных, которые являются причинными в развитии моногенных заболеваний сетчатки в исследуемой группе, в таблице 11 приведен настолько мелким шрифтом, что его практически невозможно разобрать, хотя это одно из важных достижений диссертанта.

Данные замечания не носят принципиального характера и не препятствуют представлению диссертации к защите.

8. Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Таким образом, диссертация Винер Марианны Евгеньевны «Патофизиологическое обоснование применения таргетных методов лечения моногенных заболеваний сетчатки», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.03.03 - Патологическая физиология и 14.01.07 – Глазные болезни, является законченной научно-квалификационной работой, в которой проведено изучение эпидемиологии моногенных заболеваний сетчатки в России, внедрение в клиническую практику алгоритмов своевременной дифференциальной

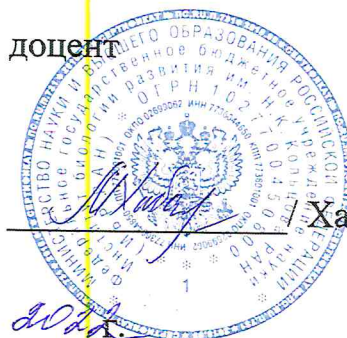
диагностики, определение возможной перекрестной эффективности имеющихся терапевтических препаратов и применение таргетного лечения, что имеет значение для патологической физиологии, клинической офтальмологии и генетики, и соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории проблем регенерации
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Панова / Панова Ина Георгиевна /

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова
Российской академии наук
Адрес: 119334, Москва, ул. Вавилова д. 26,
Тел.: 8 (499) 135-55-07
Адрес электронной почты: pinag@mail.ru

Подпись Пановой И. Г. удостоверяю
Ученый секретарь ИБР РАН,
кандидат биологических наук, доцент
Хабарова Марина Юрьевна



Хабарова Марина Юрьевна/

Дата: «10» февраля 2022