

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Винер Марианны Евгеньевны на тему: «Патофизиологическое обоснование применения таргетных методов лечения моногенных заболеваний сетчатки», представленной 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, в том числе 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 заболеваний сетчатки в современном обществе в совокупности с появляющимися эффективными методами их лечения, которые ранее были недоступны. При отсутствии лечения моногенные заболевания сетчатки прогрессируют, приводят к полной слепоте и тяжёлой инвалидности. Своевременная диагностика, в том числе дифференциальная диагностика моногенных заболеваний сетчатки затруднена редкостью этой группы заболеваний и высокой стоимостью необходимого лабораторного молекулярно-генетического анализа, однако в последние годы наблюдается положительная тенденция в сторону более

раннего выявления заболеваний. Точных эпидемиологических данных встречаемости данной 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 значительных 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 тщательно спланированное экспериментальное исследование. Сформулированные соискателем задачи соответствуют цели исследования, а выводы полностью отражают решение поставленных 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, построении исследования на известных, проверяемых фактах, достаточном объеме исследований, адекватной оценке и интерпретации полученных результатов. Выводы обоснованы, поскольку вытекают из полученных автором материалов.

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

Достоверность результатов, сформулированных положений и выводов подтверждена достаточным объемом проведенных исследований, использованием современных методов исследования, а также корректной 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. Список литературы включает 363 источника (23 – отечественных и 340 – зарубежных авторов).

Автором 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.

По результатам исследований подана 1 заявка на патент 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, могут использоваться в педагогической деятельности теоретических и клинических кафедр медицинских ВУЗов.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Диссертация изложена на 277 страницах, содержит 44 таблиц и 78 рисунков, построена традиционно 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 источников (26 – отечественных и 344 – зарубежных авторов).

Во введении подробно и четко 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 избегании 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 кистозного 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 воздействие 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 полностью соответствуют цели и задачам исследования и в полной мере соответствуют полученным результатам.

Автореферат полностью 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 образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации. 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

Диссертационная работа Винер М.Е. написана в классическом стиле, хорошо оформлена, изложена понятным литературным языком.

При ознакомлении с диссертационной работой возникли следующие замечания.

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.

Кроме того, в диссертации слишком много выводов, некоторые из которых являются скорее методическими разработками. Можно было бы ограничиться меньшим количеством более фундаментальных выводов.

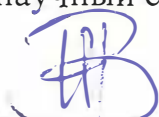
Данные замечания не носят принципиального характера и не препятствуют представлению диссертации к защите.

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, что 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 медицинских наук, профессор
главный научный сотрудник



Шелудченко Вячеслав Михайлоович

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Научно-исследовательский институт глазных болезней

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо д. 11А,

Тел.: +7 (499) 248-31-98, +7 (916) 174-72-08

Адрес электронной почты: scotoma@mail.ru

Подпись Шелудченко В.М. удостоверяю
Ученый секретарь ФГБНУ НИИ глазных болезней
доктор медицинских наук
Иванов М.Н



/Иванов М.Н./

Дата: 12.02.2022..