

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Филипенко Максима Леонидовича на диссертационную работу Некрасовой Людмилы Андреевны на тему «Ассоциация полиморфизма генов, связанных с эндотелиальной дисфункцией, с тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19» по специальностям 3.3.8 – клиническая лабораторная диагностика, 1.5.4 – биохимия

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Л.А. Некрасовой посвящена актуальной проблеме выявления молекулярно-генетических и биохимических диагностических показателей, позволяющих маркировать как потенциально тяжелое, так и потенциально легкое течение заболевания у пациентов с развития легочной пневмонии, системного воспаления и ДВС-синдрома при COVID-19 является система активаторов плазминогена, катализирующая превращение зимогена плазминогена до активной протеазы плазмина – одного из основных активаторов фибринолиза в крови. Эндотелий является основным регулятором сосудистого гомеостаза, поскольку выполняет барьерную функцию и способен отвечать на биохимические сигналы путем выработки факторов, регулирующих тонус сосудов, клеточную адгезию, воспаление в сосудистой стенке и тромбообразование. Эндотелиальная дисфункция характерна для многих патологических состояний, включая вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2 поражение сердечно-сосудистой системы и системы коагуляции. Оценка прогностической значимости аллельных вариантов генов, участвующих в формировании эндотелиальной дисфункции и нарушениях системы фибринолиза, для оценки тяжести течения заболевания больных COVID-19 актуальна для современной биохимии и клинической лабораторной диагностики. Ранняя диагностика, основанная на анализе полиморфизма данных генов, может иметь важное значение для прогнозирования тяжелого течения и возможных осложнений в виде

тромбозов, острого респираторного дистресс-синдрома и цитокинового шторма при COVID-19.

Новизна исследования и полученных результатов

Диссертационное исследование, выполненное Л.А. Некрасовой, характеризуется значительной степенью новизны. В основе диссертации лежит ретроспективное исследование, включающее 151 пациента, в котором впервые изучалась взаимосвязь между определенными полиморфными вариантами генов, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, уровнем белков, закодированных в изучаемых генах, в сыворотке крови, параметрами свертывания крови и процентом поражения легких у пациентов с COVID-19. Научные положения, выводы и рекомендации, представленные в исследовании, характеризуются достаточной степенью достоверности и новизны, представляются к защите впервые. В представленном исследовании впервые установлена ассоциация однонуклеотидного полиморфизма гена, кодирующего рецептор урокиназного активатора плазминогена с менее тяжелым поражением легких у пациентов с диагностированным COVID-19. Данные анализа крови и молекулярно-генетические факторы, рассматриваемые в исследовании, легли в основу построения обобщающей модели, построенной посредством логистической регрессии, определяющей независимые показатели оценки и прогнозирования степени повреждения легких при COVID-19.

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

В диссертационной работе Л.А. Некрасовой был проведен развернутый анализ литературных данных, посвященный ассоциации полиморфизма генов системы фибринолиза и генов, регулирующих тонус кровеносных сосудов, с тяжестью течения заболевания, вызываемого коронавирусом SARS-CoV-2. Это позволило автору сопоставить результаты собственного исследования с ранее опубликованными данными. Научный анализ и выводы базируются на достаточном объеме экспериментального материала. В работе использованы

современные методы исследования, соответствующие поставленным задачам. Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного объема клинического материала. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Таким образом, научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертации, обоснованы.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Полученные в диссертационной работе данные расширяют представления о генетически-обусловленных механизмах нарушения системы фибринолиза и развития эндотелиальной дисфункции при патогенезе вируса

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что в работе раскрыта прямая взаимосвязь индивидуальных генетических особенностей и степени поражения легких у пациентов с COVID-19. Кроме того, построена обобщающая модель, позволяющая дополнительно к биохимическим и гемостатическим показателям посредством анализа молекулярно-генетических критериев прогнозировать тяжесть поражения легких при

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что автором предложено принимать во внимание и использовать для определения наилучшей терапевтической стратегии ассоциацию гетерозиготного генотипа варианта гена *PLAUR* rs2302524 с меньшим повреждением легких как предиктор благоприятного развития заболевания, вызванного SARS-CoV-2. Также предложено использовать в качестве предикторов тяжелого течения COVID-19 высокие уровни растворимого uPAR в крови, что также способствует выбору оптимальной тактики лечения и улучшению результатов лечения пациентов.

Материалы диссертации Л.А. Некрасовой внедрены в процесс обучения студентов Факультета фундаментальной медицины Московского

государственного университета имени М.В. Ломоносова в рамках курса «Микробиология, вирусология и иммунология».

Оценка содержания и завершенности работы

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, выводы, практические рекомендации, список литературы. Список литературы включает 192 источника: 19 отечественных и 173 иностранных, диссертация иллюстрирована 11 таблицами и 18 рисунками.

По результатам работы опубликовано 4 статьи, из них одна реферируемая в SCOPUS и WoS.

Несмотря на общее позитивное впечатление в процессе рассмотрения диссертационной работы Некрасовой Людмилы Андреевны возникли отдельные вопросы и замечания.

В данной работе использовали результаты лабораторных исследований пациентов, полученные в период госпитализации пациентов в стационаре МНОЦ МГУ. Используются максимальные показатели за период госпитализации, объясните почему? Автор не описывает в какой именно временной точке была взята периферическая кровь для анализа? Для поиска прогностических маркеров это должно было происходить до развития тяжелого состояния.

Была ли у автора работы возможность динамического анализа биохимических показателей с тяжестью течения заболевания?

Автор пишет, что в представленной работе впервые идентифицирован полиморфный вариант rs2302524 гена PLAUR, кодирующего рецептор урокиназного активатора плазминогена, как полиморфизм, достоверно

связанный с менее тяжелым поражением легких по результатам компьютерной томографии у пациентов с диагностированным COVID-19. Во-первых, наверное, все-таки имелось ввиду, что автор впервые показал ассоциацию, а не идентифицировал и описал этот аллельный вариант. Во-вторых, не корректно использовать термин «достоверно отличающаяся» вместо правильного «имеющая статистически значимые отличия». Тем более, что автор использует это правильный термин в отдельных выводах.

Каким образом и по каким критериям выбирали SNP (кроме принадлежности к определённому гену)? Например, для гена PLAUR выбрано два SNP, почему два и почему именно эти?

Объясните логику представления средних значений $\pm$ стандартная ошибка среднего, обычно более показательнее стандартное отклонение. В представлении данных часто приводятся большее количество знаков после запятой чем это реально необходимо и имеет значение (например, p -

При анализе корреляции различных факторов с тяжестью повреждения легких автор действительно приводит R , а не R^2 ?

Оценка диагностической эффективности анализируемых факторов анализа крови в прогнозировании развития состояния может быть сделана если используемые параметры/факторы были определены до развития этого состояния? Насколько это применимо к рассматриваемому исследованию?

Автор работы показал наличие статистически значимой ассоциации для SNP PLAUR rs2302524, но для другого маркера этого гена rs344781 ассоциация не оказалась статистически значимой. Как автор может попытаться объяснить

этот результат? Какое сцепление показали эти два локуса при анализе гаплотипов?

Мне кажется, что вывод «Гетерозиготный генотип TC полиморфного варианта гена PLAUR rs2302524, вызывающего миссенс-мутацию Lys220Arg, является достоверно ассоциированным с легкой степенью поражения легких у пациентов с COVID-19» несколько запутывает читателя. По сути автор показал, что аллель C rs2302524 статистически значимо ассоциирован с протективным эффектом. При крайне малом количестве гомозигот CC не приходится говорить о значимости ассоциации этого генотипа. Не уверен, что статистика позволяла адекватно применить критерий Акаике, чтобы обосновано говорить об ассоциации только и именно генотипа TC.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Л.А. Некрасовой «Ассоциация полиморфизма генов, связанных с эндотелиальной дисфункцией, с тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством кандидата медицинских наук Самоходской Ларисы Михайловны и доктора биологических наук Семиной Екатерины Владимировны, содержащей новое решение актуальной научной задачи – поиска дифференциально-диагностических критериев оценки и прогнозирования тяжести течения -19, имеющей существенное значение для клинической лабораторной диагностики и биохимии.

Диссертационная работа Л.А. Некрасовой по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также по объему и уровню проведенного исследования полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства

Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.3.8. – клиническая лабораторная диагностика и 1.5.4. – биохимия.

Заведующий лабораторией фармакогеномики
ФГБУН Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
доктор биологических наук

– молекулярная биология

Филипенко Максим Леонидович

10.05.2023

Личную подпись М.Л. Филипенко заверяю.

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН

к.б.н., Логашенко Евгения Борисовна



Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Телефон: 8 (383) 363-51-50

e-mail: niboch@niboch.nsc.ru