

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника неврологического отделения, профессора кафедры неврологии ФУВ, врача Центра рассеянного склероза государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области "Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского", Якушиной Татьяны Игоревны на диссертационную работу Омаровой Мадины Алиевны «Геномное исследование цереброспинальной жидкости пациентов с ремиттирующим и первично-прогрессирующим вариантами течения рассеянного склероза и лиц с радиологически изолированным синдромом», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.1.24 Неврология (медицинские науки)

### Актуальность исследования

Несмотря на широкое и многоплановое изучение рассеянного склероза, это заболевание было и остается одной из самых актуальных проблем современной неврологии и одним из самых дорогостоящих заболеваний, лечение которого осуществляется за счет государственных дотаций. Многие аспекты, касающиеся этиологии и патогенеза остаются до конца неясными, общая картина складывается благодаря исследованиям, выполненным в отдельно взятых регионах. Рост заболеваемости РС среди лиц молодого, трудоспособного населения во всем мире обуславливает высокую значимость проблемы. В диссертационном исследовании Омаровой Мадины Алиевны затронута важная неврологическая и социальная проблема — поиск этиологических факторов рассеянного склероза (РС) и предболезни - радиологически изолированного синдрома (РИС). В настоящее время общепринятой является мультифакторная этиология заболевания. Основопологающим звеном служит наследственная предрасположенность к РС, на которую накладываются различные факторы окружающей среды, в том числе, инфекционные агенты. В различное время почти все известные микроорганизмы предлагались в качестве причины заболевания: простейшие, спирохеты, риккетсии, бактерии, вирусы, и даже

прионы. Поиск инфекционных агентов проводился в плазме, сыворотке крови, других биологических жидкостях. В последнее время появилось много работ, посвященных изучению микробиома кишечника. Однако, РС является патологическим процессом, протекающим в ЦНС, то есть за пределами ГЭБ. Исследований же микробиома цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) ранее не проводилось, хотя именно ЦСЖ циркулирует вокруг головного и спинного мозга, находится в постоянном контакте с ними, и, в частности, с участками поражения при РС. Диссертантом проведено обширное исследование различных характеристик ЦСЖ (микробиома и профиля экспрессии микроРНК) у пациентов с РС и РИС, позволяющее уточнить этиологию заболевания, прогнозировать дальнейший исход событий для лиц с РИС, а также проводить раннюю диагностику течения заболевания и своевременно назначать адекватную патогенетическую терапию.

Таким образом, результаты работы Омаровой Мадины Алиевны, имеют не только теоретическое, но и практическое значение, поскольку способствуют персонифицированному подходу, улучшению прогноза заболевания и качества жизни пациентов, что и определяет актуальность данного диссертационного исследования.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, основана на достаточном клиническом материале с использованием современных методов исследования, в том числе методе газовой хроматографии с масс-селективным детектированием ионов и методе секвенирования свободно циркулирующих микроРНК, выбор которых соответствовал поставленным целям и задачам научной работы. Проведен подробный сравнительный анализ полученных собственных данных с результатами, представленными в отечественной и зарубежной литературе. Полученные материалы обработаны с применением адекватных современных методов статистического анализа, что отвечает требованиям доказательной медицины и подтверждает достоверность полученных результатов. Работа оформлена стилистически грамотно.

Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации логично вытекают из полученных результатов, являются корректными и научно обоснованными.

Материалы диссертации доложены на российских и международных конференциях: XXXII Межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы неврологии и нейрохирургии: аутоиммунные и орфанные заболевания нервной системы: алгоритмы диагностики и лечения» 26-27 мая 2023г., г.Томск (1 место в конкурсе молодых ученых); XI Сибирская межрегиональная научно-практическая конференция «Аутоиммунные заболевания в неврологии: ранний старт – ключ к успеху» 16-18 февраля 2023г, г.Новосибирск; V юбилейный конгресс Российского Комитета Исследователей рассеянного склероза с международным участием «Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. Вопросы патогенеза, диагностики и терапии» 28-30 сентября 2023г, г.Уфа (1 место в конкурсе молодых ученых); I Российский неврологический конгресс с международным участием 26-27 октября 2023г, г.Москва; Всероссийская научно-практическая конференция «Перспективные направления диагностики и терапии демиелинизирующих заболеваний» и Конференции молодых ученых по итогам Конгресса РОКИРС 2023, 15-16 декабря 2023г, г.Ярославль.

Результаты исследования изложены в диссертации и автореферате. По теме диссертации опубликовано 4 публикации в научных изданиях, прошедших рецензирование ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. По теме диссертационной работы был одобрен и успешно выполнен грант РФФИ №22-15-00284.

### **Научная новизна и практическая значимость полученных результатов**

Автором впервые подробно изучены показатели ЦСЖ, а именно объективно оценен микробиотический состав ЦСЖ, а также содержание свободной циркулирующей микроРНК в ликворе пациентов с РС и РИС. Впервые установлены значимые различия в профилях экспрессии микроРНК у пациентов с РС и РИС по сравнению с контрольной группой. Подобное исследование для лиц с РИС ранее не проводилось. Показано, что у пациентов с

РИС и РС имеется изменение экспрессии общих микроРНК, не наблюдаемое в группе контроля.

Результаты, полученные автором в ходе исследования, позволили впервые оценить микробиотические показатели ЦСЖ, а также циркулирующие микроРНК на ранних стадиях различных типов течения РС и при РИС, что может послужить в будущем подспорьем для понимания новых механизмов развития РС, использовать дифференцированные, персонализированные подходы к диагностике и лечению РС, в зависимости от варианта течения заболевания. Все это позволит внести вклад как в фундаментальную неврологию, так и практическую.

Результаты научно—исследовательской работы Омаровой Мадины Алиевны внедрены в практическую и научную работу неврологического отделения ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, неврологического отделения ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ», практическую работу неврологического отделения Московского центра рассеянного склероза, а также в учебную работу кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГАОУ ВО лечебного факультета «РНИМУ им. Н.И. Пирогова».

### **Содержание диссертации**

Диссертационная работа построена по классическому типу и включает в себя список сокращений, вводную часть, обзор литературы, материалы и методы исследования, главу с результатами исследования, заключение, выводы, практические рекомендации, список используемой литературы и приложения. Список используемой литературы содержит 150 источников, 4 из которых отечественных и 146 зарубежных авторов. Работа изложена на 131 странице машинописного текста, содержит 19 таблиц, иллюстрирована 19 рисунками.

Во введении автором обоснована актуальность проблемы, четко сформулированы цель и задачи исследования, аргументированы научная новизна и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

В обзорной части представлена развернутая информация о состоянии проблемы на текущий момент. Глава написана с использованием данных, представленных в современных отечественных и зарубежных литературных

источниках. Отмечено, что в отечественной литературе не представлено данных на тему диссертационного исследования, в зарубежных источниках имеются работы по изучению микробиоты кишечника при РС, изучению отдельных микроРНК крови пациентов с РС. Попыток изучить микробный след в ЦСЖ на момент начала исследования не было. Обзор литературы свидетельствует о глубоком знании проблемы и содержит аргументированное обоснование цели и задач проведенной работы.

В главе «Материалы и методы» в полном объеме представлены объект и дизайн исследования; используемые методы и методики. В соответствии с поставленными задачами 126 пациентов были разделены на группы, в зависимости от типа течения заболевания: РРС, ППРС, группа пациентов с РИС и группа контроля. Пациентам проводилось исследование генома ЦСЖ (микробиотических показателей, микроРНК) на ранних стадиях различных типов течения РС и при РИС, для изучения механизмов развития заболевания и разработки новых диагностических маркеров. Подробно описаны методы, которые использовались для лабораторного исследования. Первый метод – газовая хроматография с масс-селективным детектирование ионов жирных кислот. Этот метод позволяет выявить ионы жирных кислот мембран микроорганизмов и дает высокую точность в определении даже низких концентраций микробных компонентов в биологическом образце. Второй метод – секвенирование нового поколения – принципиально новый вариант изучения роли микроРНК ЦСЖ в патогенезе заболевания.

В третьей главе изложены непосредственно результаты проведенного исследования, показаны статистические значимые закономерности и проведено аналитическое обсуждение полученных данных в сопоставлении с данными литературы. При анализе полученных результатов определены статистически значимые различия между исследуемыми группами пациентов (различные варианты течения РС, РИС и контрольная группа) ( $p < 0.05$ ). Наиболее значимые различия от контрольной группы по содержанию микробных маркеров наблюдались в группе пациентов с ремиттирующим РС в стадии ремиссии. Показано, что у этих пациентов в два раза и более увеличено содержание маркеров, специфичных для вируса Эпштейна-Барр, бактерий *Pseudomonas*

*aeruginosa, Peptostreptococcus anaerobius, Moraxella, Acinetobacter, Eubacterium, Butirivibrio, Bifidobacterium u Propionibacterium acnes.* На втором месте по микробной нагруженности после пациентов с РС в стадии ремиссии находятся пациенты с РИС. У пациентов с РИС обнаружено повышенное содержание маркеров бактерий *Pseudomonas, Moraxella, Propionibacterium acnes, Acinetobacter*, а также маркеров вируса Эпштейна-Барр.

Приведенные в диссертации результаты служат важным аргументом для утверждения, что полимикробное инфицирование является одним из этиологических факторов не только РС, но и предрасполагающих состояний (РИС), позволяющих относить таких пациентов к группе риска. Активное наблюдение группы риска способствует сокращению сроков постановки диагноза и своевременному назначению патогенетической терапии.

Автор проводит анализ результатов выделения и секвенирования свободной микроРНК ЦСЖ. Исследования экспрессии микроРНК показали, что в ЦСЖ содержатся и дифференциально экспрессируются микроРНК для разных вариантов течения РС и пациентов с РИС, в отличие от контрольной группы, что указывает на непосредственную роль данных микроРНК в патогенезе РС и предрасполагающих состояний (РИС).

В заключении автор обобщает и конкретизирует полученные результаты, обсуждает перспективы дальнейших исследований, направленных на поиск диагностических и прогностических маркеров рассеянного склероза.

Выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, отражают цели и задачи исследования и логично вытекают из результатов исследования.

Работа написана грамотным литературным языком и хорошо иллюстрирована.

Принципиальных замечаний по методологии исследования, изложению материала, выбору методов исследования, результатам и выводам, а также по оформлению диссертации и автореферата нет. В тексте диссертации встречаются единичные опечатки и стилистические неточности. Однако, указанные замечания не носят принципиального характера и не уменьшают ценности проведённого научного исследования.

При ознакомлении с диссертацией Омаровой Мадины Алиевны в порядке

дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

- 1) Планируете ли Вы, в ходе дальнейшей работы, рассмотреть вопрос: как влияют различные ПИТРС на состояние микробиома ЦСЖ? Вы оценивали микробиотические показатели ЦСЖ у «наивных» пациентов, не получающих патогенетическую терапию. Но, согласно литературным источникам, диметилфумарат имеет свойство уничтожать грибы, подавлять рост *Clostridium perfringens*, интерфероны обладают противовирусной активностью и т. д. Быть может, дальнейшее изучение этого вопроса будет способствовать более обоснованному выбору терапии и персонализированному подходу к лечению?
- 2) Как Вы полагаете: можно ли расценивать экспрессию микроРНК в ЦСЖ, как следствие распада клеток при прогрессировании РС, и, следовательно, рассматривать этот показатель не только в качестве потенциального прогностического маркера трансформации в РС для лиц с РИС, но и в качестве предиктора нейродегенерации?

### **Заключение**

Диссертационная работа Омаровой Мадины Алиевны «Геномное исследование цереброспинальной жидкости пациентов с ремиттирующим и первично-прогрессирующим вариантами течения рассеянного склероза и лиц с радиологически изолированным синдромом» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Бойко Алексея Николаевича. В работе содержится решение актуальной научной задачи — уточнение этиологии рассеянного склероза и поиск дополнительных диагностических и прогностических маркеров заболевания. Результаты диссертационного исследования имеют существенное значение для развития неврологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62), а автор Омарова Мадина Алиевна достойна присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.24. Неврология (медицинские науки).

### Официальный оппонент

Старший научный сотрудник  
неврологического отделения,  
профессор кафедры неврологии ФУВ,  
врач Центра РС ГБУЗ МО  
МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,  
доктор медицинских наук

Якушина Татьяна Игоревна

Подпись доктора медицинских наук Якушиной Т. И. заверяю:

Ученый секретарь

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,  
доктор медицинских наук, профессор



Н.Ф. Берестень

129110, г. Москва, ул. Щепкина 61/2, корпус 1;  
Телефон: +7(495)684-57-63, E-mail: moniki@monikiweb.ru

«26» 08 2024 года