

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, руководителя Тюменского областного центра рассеянного склероза АО «Медико-санитарная часть «Нефтяник» Сиверцевой Стеллы Анатольевны 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

Диссертация Мадины Алиевны Омаровой посвящена комплексной неврологической проблеме — изучению этиологии рассеянного склероза (РС). На ранних стадиях заболевания этиология и патогенез нейровоспалительного и нейродегенеративного процессов до конца не изучены, что затрудняет раннюю диагностику, профилактику и назначение эффективной терапии на начальной стадии болезни.

Диагноз РС устанавливается на основании как клинических, так и радиологических данных (МРТ головного и спинного мозга), однако для ранней диагностики этого не всегда достаточно, особенно для состояний, предрасполагающих к заболеванию, таких как радиологически изолированный синдром (РИС).

При РС описаны различные комбинации изменения микробиома кишечника, что позволяет говорить о патологическом функционировании оси «мозг-кишечник» при этом заболевании. Полученные данные по микробиому



кишечника противоречивы и зависят от методологических особенностей забора биологического материала и выбранных групп пациентов. Выявленные изменения пока трактуются как дисбаланс, патогенетическое значение которого на разных стадиях течения РС и в зависимости от получаемого лечения пока не изучено.

Микробиом у людей с РС изучен, но данные о его составе в спинномозговой жидкости отсутствуют. Подобное исследование также не проводилось у людей с радиологически изолированным синдромом.

В литературе имеются данные о роли нарушенной микробиоты в развитии РС. Также получены данные о наличии у пациентов с РС определенных специфичных свободно циркулирующих микроРНК, которые могут через гены-мишени участвовать в развитии РС, но высокопроизводительные методы секвенирования не использовались ранее. Изучение РИС имеет важное значение, так как многочисленные исследования показали, что до 50% случаев РИС переходят в РС, при этом ведется поиск факторов риска перехода. В связи с этим большой интерес вызывает выявление общих патологических изменений микробиома и микроРНК для РИС и РС. Это многообещающий результат, который может значительно улучшить прогнозирование риска трансформации РИС в РС с использованием выявленных маркеров. Автор провела тщательное исследование, направленное на поиск новых маркеров для патогенеза и диагностики РС и РИС. Таким образом, поиск этиологии РС и РИС является важной задачей, что определило актуальность диссертационного исследования Мадины Алиевны Омаровой.

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



Диссертационная работа Мадина Алиевны Омаровой является научно — практическим исследованием, посвященным проблеме этиологии РС и РИС.

Клиническое исследование представляет собой анализ 69 пациентов с разными формами течения впервые диагностированного РС, 10 индивидов с РИС и 47 пациентов в контрольной группе. Проводилось исследование микробиома ликвора и крови методом газовой хромато-масс-спектрометрии, а также поиск микроРНК, дифференциально экспрессирующихся в ликворе у данных пациентов, путем высокопроизводительного секвенирования.

Мадина Алиевна методологически верно определила цель и задачи исследования. Анализ полученных данных, а также применяемые методы статистической обработки подтверждают достоверность результатов. Работа оформлена стилистически грамотно. Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации основаны на достаточном объеме клинического материала, 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 РНФ №22-15-00284.

Научная новизна и практическая значимость полученных результатов

Новизна представленного диссертационного исследования заключается в том, что впервые оценено изменение состава и структуры микробиома ЦСЖ. Также в ходе данной работы изучено содержание свободной циркулирующей микроРНК в ликворе пациентов с РС и РИС. К моменту начала исследования для РС не было опубликовано ни одной работы, в которой весь пул микроРНК (мирном) в ликворе исследовался одновременно с помощью высокопроизводительных методов, в частности методом секвенирования нового поколения (NGS). Профилирование микроРНК в ликворе пациентов с РИС ранее не проводилось.

Выявленные изменения позволили качественно и количественно оценить изменения генома ЦСЖ (микробиотических показателей, микроРНК) на ранних стадиях различных типов течения РС и при РИС, что возможно в будущем позволит выявить новые механизмы развития заболевания и предложить принципиально новые маркеры диагностики и, вероятно,



направления для терапии. Все это позволит внести вклад как в фундаментальную неврологию, так и практическую.

Результаты научно-исследовательской работы Мадины Алиевны Омаровой 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

Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста, оформлена по общепринятым правилам и включает в себя список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, главу с результатами собственного исследования, заключение, выводы, практические рекомендации, список используемой литературы и приложения.

Библиографический список содержит 150 источников, из которых 4 отечественных и 146 зарубежных авторов.

Введение содержит актуальность, цель, задачи, новизну, практическую значимость работы, а также положения, выносимые на защиту. Обзор литературы полноценно раскрывает современное состояние проблемы. Особого внимания заслуживает часть литературного обзора, посвященная современным представлениям о роли микробиоты и микроРНК в развитии РС. В мировой литературе представлено много данных о микробиоте кишечника и о содержании специфических микроРНК в крови пациентов с РС, но нет данных о микробном компоненте в ликворе, а также очень мало данных по содержанию циркулирующей микроРНК в ликворе пациентов с РС. Подобных



данных для РИС нет. Мадина Алиевна в полной мере раскрывает эту тему в литературном обзоре, объясняя актуальность исследования данной проблематики.

Глава 2 посвящена материалам и методологии исследования. Ключевым моментом этой части работы является описание методики исследования содержания микробных маркеров в биологических жидкостях (кровь и ликвор), обеспечивающей обнаружение низких концентраций микробных маркеров. Не менее важным в главе является подробное описание методологии выделения РНК, выделения и последующего секвенирования микроРНК ликвора, анализа данных секвенирования микроРНК, а также методов современного статистического анализа данных.

Глава 3 посвящена результатам исследования. Автор представила глубокий статистический анализ сравниваемых групп, доказала, что характеристики групп эквивалентны и не имеют статистически значимых различий, это позволило получить достоверные результаты сравнительного анализа содержания микробных маркеров и циркулирующей микроРНК ЦСЖ в исследуемых группах. В анализе лабораторной части исследования доказано, что определяются статистически значимые различия между исследуемыми группами пациентов (РРС-обострение, РРС-ремиссия, ППРС, РИС и контрольная группа) ($p < 0.05$). Автор показала, что наиболее значимые отличия от контрольной группы наблюдались в содержании микробных маркеров в группе пациентов РРС-ремиссия. Например, у таких пациентов в два раза и более было увеличено содержание маркеров, специфичных для вируса Эпштейна-Барр, бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Eubacterium*, *Butirivibrio*, *Bifidobacterium* и *Propionibacterium acnes*. Также обнаружено повышение уровня кампестерола, источником которого являются кампестерол-продуцирующие микроорганизмы. На

втором месте по микробной нагруженности находится группа с РИС. У данной группы обнаружено статистически значимое увеличение содержания маркеров бактерий *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Propionibacterium acnes*, *Acinetobacter*, а также маркеров вируса Эпштейна-Барр. Маркера 3h12, который специфичен для *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, обнаружен для всех сравниваемых групп, кроме группы пациентов с РРС в стадии обострения. Исследование уровня микробных маркеров в цельной крови пациентов с РРС в различных стадиях заболевания и контрольной группы не выявило статистически значимых различий между этими группами, что совпадает с данными литературы.

Анализ профилей экспрессии микроРНК показал наличие дифференциально экспрессирующихся микроРНК для разных типов течения РС и РИС в отличие от контрольной группы. Автор подчеркивает, что это может указывать на непосредственную роль данных микроРНК в патогенезе РС и предрасполагающих состояний (РИС).

Описанные в данной работе характеристики ЦСЖ пациентов с РС и РИС позволят лучше изучить этиологию РС и улучшить прогнозирование для лиц с РИС, а также проводить раннюю диагностику РС и своевременно назначать патогенетическую терапию. Выявленные изменения (микробиома и профиля экспрессии микроРНК) в ликворе лиц с РИС в совокупности с анализом на олигоклональные IgG позволяют заподозрить ремиттирующее или первично-прогрессирующее течение РС и указывают на необходимость более тщательного динамического наблюдения данной группы.

В заключении Мадина Алиевна обобщает и конкретизирует полученные результаты, обсуждает перспективы и направление дальнейших исследований.

Принципиальных замечаний по методологии исследования, изложению материала, выбору методов исследования, результатам и выводам, а также по



оформлению диссертации и автореферата нет. В тексте диссертации и автореферата встречаются единичные орфографические ошибки, опечатки и стилистические неточности. Однако, указанные замечания не носят принципиального характера и не уменьшают ценности проведенного научного исследования. При ознакомлении с диссертацией Мадина Алиевны Омаровой в порядке дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

1. Какие Вы видите перспективы, пути внедрения и применения в реальной клинической практике полученных в ходе работы данных?
2. В работе показано увеличение уровня содержания маркеров микрогрибов в ликворе пациентов с РС. Возможно ли в настоящее время применение диметилфумарата у пациентов с РИС с профилактической целью предупреждения трансформации РИС в РС?
3. Могут ли данные микроРНК могут стать прогностическими маркерами типа течения РС и раннего назначения патогенетической терапии?

Заключение

Диссертационная работа Мадина Алиевны Омаровой «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 — выяснение причин развития рассеянного склероза и предрасполагающих состояний, таких как радиологически изолированный синдром.



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 сама автор Мадина Алиевна Омарова достойна присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.24. Неврология (медицинские науки).

Официальный оппонент

Доктор медицинских наук, невролог,
руководитель Тюменского областного центра
рассеянного склероза

Стелла Анатольевна Сиверцева

Акционерное общество

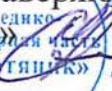
«Медико-санитарная часть «Нефтяник»

Тюменский областной центр рассеянного склероза

г. Тюмень, ул. Шиллера, 12

+7 (3452)55-58-63, эл почта: neurolog@bk.ru

Подпись, ученую степень д.м.н. С.А.Сиверцевой заверяю

Главный врач поликлиники «АО МСЧ «Нефтяник»  К.А. Осипенко

«27» августа 2024 г.

