

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, доцента, главного
научного сотрудника неврологического отдела государственного
учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии
и нейрохирургии» Куликовой Светланы Леонидовны
на диссертацию Зобиковой Ольги Леонидовны
«Врожденные пороки развития конечного мозга: голопроэнцефалия,
агенезия мозолистого тела (клиническая, генетическая характеристика,
медико-генетическое консультирование)», представленную в Совет по
защите диссертаций Д 03.16.03 на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика
(медицинские науки)**

1. Соответствие диссертации специальности и отрасли науки

Диссертационная работа Зобиковой О.Л. по содержанию, поставленной цели, научным положениям, выводам и практическим рекомендациям полностью соответствует специальности 03.02.07 – генетика (медицинские науки) и отрасли «Медицинские науки».

2. Актуальность темы диссертации

Врожденные пороки развития центральной нервной системы (ЦНС) занимают лидирующие позиции в структуре детской заболеваемости, инвалидности и смертности. Среди них особое место занимают пороки конечного мозга – голопроэнцефалия и агенезия мозолистого тела. Гетерогенность этиологических факторов (хромосомные аномалии, моногенные мутации, экзогенные причины), сложность пренатальной диагностики легких форм, а также высокая вариабельность клинических проявлений и прогноза делают эту проблему одной из наиболее сложных в современной перинатологии и медицинской генетике.

В Республике Беларусь до настоящего исследования отсутствовали данные о популяционной частоте данных пороков, не был определен спектр наследственных причин, не разработаны алгоритмы дифференцированного подхода к диагностике и медико-генетическому консультированию (МГК). Таким образом, тема диссертации является актуальной и соответствует приоритетным направлениям научно-технической и инновационной

деятельности на 2021–2025 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь № 156 от 07.05.2020.

3. Степень новизны результатов диссертации и научных положений, выносимых на защиту

Научная новизна работы не вызывает сомнений и определяется следующим:

в эпидемиологической части работы впервые на территории Республики Беларусь сформирована репрезентативная выборка, охватывающая 989 634 новорожденных за 10-летний период. На этом материале рассчитаны популяционные частоты двух нозологических форм: для голопрозэнцефалии этот показатель составил 2,3 случая на 10 000, для аномалий мозолистого тела — 5,1 на 10 000. Дополнительно определена доля каждого из пороков в общей структуре врожденных пороков развития ЦНС;

в части этиологической гетерогенности автором выполнена количественная оценка вклада наследственных факторов: установлено, что они лежат в основе 46,5% случаев голопрозэнцефалии и 38,1% случаев агенезии мозолистого тела. Впервые для белорусской популяции охарактеризован спектр хромосомных нарушений: среди них преобладают трисомия 13 и структурные перестройки хромосом. Показано, что в 14,3–50,0% наблюдений структурный хромосомный дисбаланс наследуется от клинически здоровых родителей, являющихся носителями сбалансированных транслокаций, что имеет прямое значение для репродуктивного прогноза;

в области молекулярной генетики с применением методов секвенирования нового поколения (NGS) определен вклад моногенных причин: для несиндромальной голопрозэнцефалии он составил 7,0%, для агенезии мозолистого тела — 13,8%. Выявлены патогенные варианты в генах *SHH*, *ZIC2*, *TUBB3*, *POMT1* и ряде других. Принципиальным результатом, имеющим практическое значение, стал вывод о том, что высокая диагностическая эффективность NGS-исследований подтверждается только при системных и множественных пороках развития; при изолированной форме агенезии мозолистого тела, протекающей без неврологической симптоматики, применение данного метода не имеет доказанной диагностической ценности;

в разделе экзогенных факторов риска впервые в отечественной практике выполнена количественная оценка влияния внешнесредовых воздействий. Доказано, что гипертермия (38°C и выше, продолжительностью не менее 3 суток) в критические периоды эмбриогенеза является значимым фактором: для голопрозэнцефалии критическим признан срок 4–6 недель (частота воздействия — 21,7%), для агенезии мозолистого тела — 7–12 недель (23,8%).

Также подтверждена роль хронической алкогольной интоксикации и декомпенсации сахарного диабета 1-го типа;

в диагностическом блоке проведен сравнительный анализ эффективности пренатальной ультразвуковой диагностики в зависимости от типа порока. Установлено, что алобарная форма голопроэнцефалии выявляется в 100,0% наблюдений, семилобарная — в 73,3%, лобарная — лишь в 24,0%. При агенезии мозолистого тела чувствительность метода значительно выше при полной форме (60,3%) по сравнению с частичной (24,0%);

в клинической части на достаточном объеме проспективных наблюдений охарактеризованы спектр сочетанной патологии, витальный и неврологический прогноз. Показано, что изолированная форма полной агенезии мозолистого тела в 81,0% случаев ассоциирована с благоприятным исходом, тогда как частичная агенезия в подавляющем большинстве наблюдений (96,5%) сопровождается системными пороками и неврологическими нарушениями, что определяет принципиально разный прогноз для этих двух форм порока.

4. Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций, представленных в диссертационной работе Зобиковой Ольги Леонидовны, обеспечиваются совокупностью методологических, клинических, инструментальных и статистических подходов, соответствующих современному уровню доказательной медицины.

Достоверность выводов базируется на репрезентативной выборке, сформированной за длительный временной период. Для расчета популяционной частоты пороков автором использованы данные о 989 634 новорожденных в Республике Беларусь за 10 лет (2013–2022 годы), что обеспечивает высокую эпидемиологическую достоверность полученных показателей. Проспективная группа исследования включила 288 пробандов с пороками конечного мозга (86 — с голопроэнцефалией, 202 — с агенезией мозолистого тела). Группа сравнения сформирована методом случайной выборки и включает 250 пар «мать–новорожденный» без врожденных пороков развития. Такой объем клинического материала является достаточным для проведения статистического анализа и формулирования обоснованных выводов.

Исследование выполнено с использованием широкого спектра взаимодополняющих методов, что обеспечивает многоуровневую верификацию полученных результатов. Клинико-генеалогический метод

применен для анализа отягощенности семейного анамнеза. Инструментальные методы включают пренатальное и постнатальное ультразвуковое исследование, а также магнитно-резонансную томографию головного мозга плода и новорожденных. Морфологическое исследование проведено во всех случаях прерывания беременности по медицинским показаниям, что обеспечило патоморфологическое подтверждение пренатальных диагнозов. Цитогенетические методы включали стандартное кариотипирование (G-banding) с разрешением 550–800 сегментов. Молекулярно-цитогенетические методы (MLPA, хромосомный микроматричный анализ) использованы для выявления микроперестроек. Молекулярно-генетические методы представлены таргетным секвенированием генов (*SHH*, *ZIC2*, *SIX3*, *TGIF1*) и полным экзомным секвенированием (NGS) с интерпретацией вариантов согласно рекомендациям ACMG. Такое сочетание методов позволило провести верификацию результатов на разных уровнях, что существенно повышает достоверность выводов.

Статистический анализ выполнен с использованием лицензионного программного обеспечения STATISTICA 10. Количественные переменные проверены на соответствие нормальному распределению (критерии Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка), что позволило обоснованно выбрать методы непараметрической статистики. При сравнении количественных показателей использованы U-критерий Манна–Уитни и H-критерий Краскела–Уоллиса. При сопоставлении качественных показателей применены критерий χ^2 Пирсона, двусторонний точный критерий Фишера, расчет отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала. Критический уровень значимости принят равным $p < 0,05$, при множественных сравнениях использована поправка Бонферрони ($p < 0,017$).

Достоверность полученных результатов подтверждается их воспроизводимостью и сопоставимостью с данными международных регистров. Показатели популяционной частоты голопроэнцефалии (2,3 на 10 000) и агенезии мозолистого тела (5,1 на 10 000) согласуются с результатами Европейской сети эпидемиологического надзора за врожденными пороками развития (EUROCAT). Спектр выявленных хромосомных нарушений (трисомия 13, трисомия 18, триплоидия, структурные перестройки) соответствует данным крупных зарубежных когортных исследований.

Верификация ключевых результатов выполнена с использованием нескольких независимых методов: диагноз порока ЦНС подтвержден не только данными пренатального УЗИ, но и постнатальной МРТ либо патоморфологическим исследованием; хромосомные нарушения, выявленные методом G-banding, в части случаев верифицированы молекулярно-цитогенетическими методами; патогенные варианты, обнаруженные при NGS,

интерпретированы с использованием международных баз данных (OMIM, HGMD, gnomAD) и компьютерных предсказательных программ.

Достоверность практических рекомендаций подтверждена результатами их апробации. При сравнении двух временных периодов (2020 год — до внедрения разработанных методов, 2022 год — после внедрения) установлено статистически значимое снижение числа рождений детей с системными пороками ЦНС: с 91,7% до 14,3% ($\chi^2 = 7,01$; $p = 0,019$). Экономическая эффективность внедрения рассчитана в соответствии с утвержденной методикой, что придает полученным данным дополнительную доказательную силу.

5. Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов

Научная значимость заключается в получении новых фундаментальных знаний о популяционной частоте, этиологической структуре, клинических проявлениях и прогнозе голопроэнцефалии и агенезии мозолистого тела, что расширяет представления о патогенезе и этиологической гетерогенности изучаемых пороков.

Практическая значимость определяется разработкой и внедрением в клиническую практику научно обоснованных алгоритмов пренатальной диагностики и МГК, оформленных в виде трех инструкций по применению, утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь:

– «Алгоритмы пренатальной диагностики и медико-генетического консультирования при врожденных пороках развития центральной нервной системы» (№ 137–1217 от 16.03.2018);

– «Алгоритм пренатальной диагностики кистозных образований и дисплазий головного мозга у плода» (№ 143–1118 от 30.11.2018);

– «Метод диагностики наследственных заболеваний, проявляющихся аномалиями развития мозолистого тела у плода» (№ 001–0122 от 28.02.2022).

Разработанные подходы позволяют оптимизировать маршрутизацию пациентов, повысить эффективность пренатальной диагностики (особенно лобарной голопроэнцефалии и частичной агенезии мозолистого тела), определить точную этиологию порока, оценить витальный и неврологический прогноз, а также риск повторения заболевания в семье.

Экономическая значимость связана с сокращением затрат на диагностику, лечение и реабилитацию пациентов с ВПР ЦНС. Внедрение алгоритмов позволило снизить число рожденных детей с системными пороками ЦНС в 6,4 раза, что уменьшает экономическое бремя на систему здравоохранения.

Социальная значимость заключается в решении важнейшей медико-социальной проблемы – снижение детской заболеваемости, инвалидности и смертности от ВПР ЦНС. Возможность своевременного пренатального выявления пороков, точного прогнозирования исходов и проведения МГК позволяет семьям принимать обоснованные репродуктивные решения.

6. Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 23 научные работы общим объемом 7,6 авторского листа, в том числе 11 статей в журналах и сборниках научных трудов, включенных в перечень научных изданий Республики Беларусь для представления результатов диссертационных исследований, 3 инструкции по применению, утвержденные Министерством здравоохранения Республики Беларусь, и 1 рационализаторское предложение.

Основные результаты доложены и обсуждены на 14 международных и республиканских научных конференциях, включая 29th Annual Meeting of the German Society for Human Genetics (Мюнстер, Германия, 2018), III Республиканскую научно-практическую конференцию с международным участием «Диагностика и лечение наследственных нервных заболеваний у детей» (Минск, 2024), а также на ежегодных научно-практических конференциях «Современные перинатальные медицинские технологии в решении проблем демографической безопасности» (Минск, 2017–2024).

7. Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Структура диссертации логична и включает введение, общую характеристику работы, обзор литературы, описание материала и методов исследования, две главы с изложением результатов собственных исследований, заключение, библиографический список и приложения. Основной текст диссертации изложен на 84 страницах компьютерного текста, содержит 29 таблиц и 20 рисунков. Библиографический список включает 173 источника литературы и 23 публикации соискателя. Приложения занимают 44 страницы.

Каждый раздел автор заключает конкретными выводами, дающими представление о наиболее весомых результатах исследования и позволяющими оценить логическое построение дизайна. Анализ и обобщение в данной работе полностью отражают результаты исследования. Рисунки и таблицы продуманы и хорошо иллюстрируют текст работы.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, отражает основные научные положения, выводы и практические рекомендации. Оформление диссертации и автореферата выполнено в соответствии с установленными требованиями, предъявляемыми ВАК Республики Беларусь

8. Замечания по диссертационной работе

При анализе диссертационного исследования выявлен ряд замечаний, которые не снижают научной и практической ценности работы, но могут быть учтены автором в дальнейшей научной деятельности.

1. В разделе «Материал и методы» отсутствует четкое описание критериев включения и исключения для группы сравнения. В тексте указано, что группа сравнения сформирована методом случайной выборки из базы данных акушерского физиологического отделения РНПЦ «Мать и дитя» за 2013–2022 годы. Однако не уточнены критерии исключения: исключались ли женщины с отягощенным акушерским анамнезом, с хроническими заболеваниями (в том числе сахарным диабетом, ожирением), с приемом потенциально тератогенных лекарственных средств во время беременности. Это может влиять на чистоту сравнения при анализе экзогенных факторов риска.
2. При анализе когнитивных исходов у детей с изолированной агенезией мозолистого тела не указано, проводилось ли стандартизированное психологическое тестирование (например, шкалы интеллекта Векслера, тесты на когнитивные функции) или оценка была клинической, с использованием стандартизированных инструментов.
3. В обзоре литературы автор указывает, что постоянный прием фолиевой кислоты рассматривается как протективный фактор, снижающий риск развития голопроэнцефалии. Однако в собственной работе анализ приема фолиевой кислоты у женщин группы исследования и группы сравнения не проводился, что имело бы важное практическое значение.
4. Отмечено отсутствие единообразия в указании р-значений – три знака после запятой или использование символа «<». В некоторых таблицах автор указывает один-два знака, в других три знака после запятой (например, таблица 3.5).

Представленные замечания не ставят под сомнение обоснованность основных научных положений, достоверность полученных результатов и высокую практическую значимость выполненного исследования. Однако учет этих замечаний позволит автору повысить качество дальнейших научных публикаций.

9. Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Анализ материалов по диссертации О.Л.Зобиковой, в частности, цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, а также наличие научной новизны, теоретической и практической значимости, логичной

интерпретации полученных результатов, разработанных новых методов диагностики, внедрение результатов в практическое здравоохранение, позволяет сделать вывод о соответствии Зобиковой Ольги Леонидовны научной квалификации соискателя ученой степени кандидата медицинских наук.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Зобиковой Ольги Леонидовны «Врожденные пороки развития конечного мозга: голопроэнцефалия, агенезия мозолистого тела (клиническая, генетическая характеристика, медико-генетическое консультирование)», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07– генетика (медицинские науки), является законченным научным исследованием. По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям, изложенным в Главе 3 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь № 560 от 17.11.2004 (в ред. Указов Президента Республики Беларусь от 04.03.2005 № 116-ДСП, от 24.08.2006 № 516, от 17.12.2007 № 655, от 28.05.2008 № 286, от 17.11.2009 № 556, от 13.08.2010 № 422, от 01.12.2011 № 561, от 30.12.2011 № 621, от 16.12.2013 № 560, от 02.06.2022 №190, от 23.06.2023 № 180).

Ученая степень кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика (медицинские науки) может быть присуждена Зобиковой Ольге Леонидовне за:

1. Получение новых эпидемиологических данных, а именно: впервые на репрезентативной популяционной выборке установлены популяционная частота голопроэнцефалии (2,3 на 10 000) и агенезии мозолистого тела (5,1 на 10 000), а также определена их доля в структуре врожденных пороков развития ЦНС, что имеет фундаментальное значение для организации медико-генетической службы и планирования профилактических мероприятий в Республике Беларусь.
2. Выявление спектра наследственных и экзогенных факторов, определяющих этиологическую гетерогенность изучаемых пороков. Доказано, что наследственная этиология лежит в основе 46,5% случаев голопроэнцефалии и 38,1% случаев агенезии мозолистого тела. Охарактеризован спектр хромосомных нарушений и моногенных причин. Полученные результаты легли в основу научно обоснованных подходов к профилактике и медико-генетическому консультированию.

