

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук профессора Щербо Сергея Николаевича диссертационную работу Костюшок Надежды Яновны «Молекулярно-генетические и биохимические маркеры диабетической нефропатии», представленную к защите в диссертационный совет 04.1.001.01 Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Н. Я. Костюшок посвящена решению актуальной задачи клинической лабораторной диагностики – раннему выявлению риска диабетической нефропатии с использованием молекулярно-генетических и биохимических предикторов. Диабетическая нефропатия остается одним из наиболее частых и прогностически неблагоприятных осложнений сахарного диабета, нередко дебютируя уже на стадии выраженных функциональных нарушений. Широко применяемые в практике показатели (скорость клубочковой фильтрации, альбуминурия) обладают высокой диагностической значимостью, однако отражают уже сформировавшуюся дисфункцию почек.

В этой связи перспективным направлением является поиск предикторов, позволяющих оценивать риск прогрессирования поражения почек до клинической манифестации. Исследование полиморфизма генов CYP2C19, CYP2E1, GSTP1 и GSTM1 патогенетически обосновано ключевой ролью оксидативного стресса и нарушений детоксикации в повреждении почечной ткани при диабете. Интегративная оценка генетических вариантов, активности ферментов антиоксидантной защиты в сопоставлении с функциональными показателями почек соответствует современной парадигме персонализированной лабораторной медицины. Представленное исследование является своевременным, соответствует профилю специальности 3.3.8 и направлено на совершенствование алгоритмов ранней диагностики осложнений сахарного диабета. Комплексное сопоставление генотипа, активности

антиоксидантных ферментов, малонового диальдегида и показателей функции почек соответствует современному направлению персонализированной лабораторной медицины. Тема диссертации своевременна, имеет значение для специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и отвечает потребности в совершенствовании алгоритмов раннего выявления осложнений сахарного диабета

**Степень обоснованности и достоверности научных положений,
выводов и рекомендаций**

Обоснованность научных положений и выводов диссертации обеспечены методологически продуманным дизайном, достаточным объемом клинического материала, применением современных лабораторных технологий (включая оценку активности антиоксидантных ферментов и уровня малонового диальдегида) и комплексной статистической обработкой полученных данных. Сформулированные выводы логически вытекают из результатов проведенного исследования и подтверждаются выявленными корреляциями между генетическими полиморфизмами системы биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты, показателями оксидативного стресса и функциональным состоянием почек у пациентов с СД 1 и 2 типа. Практические рекомендации имеют прикладное значение, направлены на совершенствование алгоритмов ранней диагностики диабетической нефропатии и могут быть рекомендованы для использования в клиничко-лабораторной практике.

Объем материала и примененный комплекс методов диагностики позволяют считать полученные результаты достоверными в пределах исследованной выборки и использованного дизайна.

Научные положения и выводы опираются на результаты обследования 250 человек, включавшего две основные группы по 100 пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа и контрольную группу из 50 условно здоровых лиц. Дизайн исследования, критерии включения и исключения, оценка функционального состояния почек и динамическое наблюдение изложены последовательно. Автор использовал взаимодополняющие биохимические, иммунохимические и

молекулярно-генетические методы, включая аллель-специфическую ПЦР и ПЦР в реальном времени. Исследование одобрено этическим комитетом, участники подписали информированное добровольное согласие.

Статистическая обработка включала проверку распределения, непараметрические критерии для независимых и связанных выборок, анализ таблиц сопряженности, расчет отношений шансов и 95% доверительных интервалов, корреляционный анализ, бинарную логистическую регрессию и ROC-анализ. Существенно, что в выводах отдельно отражен отрицательный результат динамического этапа: за 12–18 месяцев связь исследованных вариантов с изменением СКФ и альбуминурии не достигла статистической значимости. Такое представление результатов повышает объективность работы.

Научная новизна

Научная новизна диссертационной работы заключается в комплексном изучении взаимосвязей полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты CYP2C19 (G681A), CYP2E1 (G1293C), GSTP1 (Ile105Val) и GSTM1 (Ins/Del) с лабораторными показателями окислительного статуса и функционального состояния почек у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа. Существенным элементом научной новизны является применение ОМИКСных подходов, одновременная оценка молекулярно-генетических, биохимических и клинко-лабораторных характеристик, что позволило рассмотреть исследуемые генетические варианты не изолированно, а в контексте нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия и формирования признаков диабетического поражения почек. Научная новизна полученных результатов определяется также установлением различий в спектре выявленных ассоциаций в зависимости от типа сахарного диабета. Такой подход позволил показать, что вклад исследованных генетических вариантов в формирование лабораторного фенотипа диабетической нефропатии может быть неодинаковым при сахарном диабете 1 и 2 типа. Раздельный анализ клинических групп представляется

обоснованным, поскольку патогенетические механизмы, продолжительность метаболических нарушений и совокупность факторов риска поражения почек при указанных типах заболевания имеют существенные различия. Научная новизна результатов, полученных при анализе объединённой когорты пациентов, состоит в выявлении связи варианта Ile/Val полиморфизма Ile105Val гена GSTP1 с неблагоприятными лабораторными признаками поражения почек — снижением расчётной скорости клубочковой фильтрации и увеличением суточной альбуминурии. Полученные данные дополняют существующие представления о возможной роли генетически обусловленных особенностей ферментативной антиоксидантной защиты в развитии и прогрессировании диабетического поражения почек. При этом представленные в диссертации результаты следует оценивать как данные об ассоциациях, не предполагающие безусловного доказательства прямой причинно-следственной связи между отдельным генетическим вариантом и развитием диабетической нефропатии.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в расширении представлений о молекулярно-генетических и биохимических механизмах формирования диабетического поражения почек. Полученные результаты уточняют роль генетически обусловленных особенностей биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты в возникновении нарушений окислительного равновесия, которые могут сопровождаться изменением функционального состояния почек у пациентов с сахарным диабетом. Комплексное сопоставление исследованных полиморфных вариантов с показателями окислительного статуса, суточной альбуминурии и расчётной скорости клубочковой фильтрации позволило конкретизировать возможные взаимосвязи между наследственной предрасположенностью, биохимическими нарушениями и другими лабораторными биомаркерами при диабетической нефропатии. Теоретическая значимость исследования определяется также обоснованием целесообразности дифференцированного рассмотрения

молекулярно-генетических маркеров при сахарном диабете 1 и 2 типа. Выявленные различия в характере ассоциаций указывают на необходимость учитывать тип заболевания при интерпретации результатов генотипирования и биохимического исследования. Работа тем самым формирует предпосылки для дальнейшего изучения типа-специфических механизмов поражения почек и разработки многофакторных моделей прогнозирования, объединяющих генетические, биохимические и традиционные клинико-лабораторные показатели.

Практическая значимость диссертационной работы определяется разработкой типа-специфического алгоритма лабораторного обследования пациентов с сахарным диабетом, предусматривающего комплексную оценку молекулярно-генетических и биохимических показателей. Предложенный алгоритм может использоваться в качестве дополнительного инструмента стратификации риска и формирования групп пациентов, нуждающихся в углублённом лабораторном обследовании и динамическом наблюдении. Его применение потенциально позволяет выявлять лиц с повышенной вероятностью развития диабетического поражения почек до появления выраженного снижения их функциональной способности и тем самым способствует персонализации диагностической тактики. Практическая значимость полученных результатов подтверждается оформлением правовой охраны разработанных решений. По материалам диссертационного исследования получены два патента Российской Федерации на способы раннего прогнозирования риска диабетической нефропатии: патент № 2793531 от 4 апреля 2023 года — для пациентов с сахарным диабетом 1 типа и патент № 2812643 от 30 января 2024 года — для пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Кроме того, получены три патента на полезные модели. Наличие указанных патентов свидетельствует о прикладной направленности исследования и возможности практического использования разработанных автором подходов и технических решений.

Общая характеристика, структура и содержание диссертации

Диссертационная работа Костюшок Надежды Яновны представлена на 130 страницах машинописного текста и построена по традиционной для научно-квалификационных исследований структуре. Она включает введение, четыре главы, заключение, выводы, практические рекомендации, раздел, посвящённый перспективам дальнейшего изучения проблемы, и библиографический список. Наглядность представленного материала обеспечивается 19 таблицами и 8 рисунками. Список использованной литературы насчитывает 192 источника, среди которых 76 отечественных и 116 зарубежных публикаций. Последовательность изложения материала соответствует логике исследования: от анализа современного состояния проблемы и обоснования методических подходов — к представлению собственных результатов, их обсуждению и формулированию практических предложений.

Первая глава представляет собой аналитический обзор отечественных и зарубежных источников, посвящённых современным представлениям о патогенезе хронической болезни почек и диабетического поражения почек. Автор рассматривает действующие лабораторные критерии оценки почечной функции, значение альбуминурии и скорости клубочковой фильтрации, а также роль свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в развитии диабетических осложнений. Отдельное внимание уделено полиморфным вариантам генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и их возможному участию в формировании индивидуальной восприимчивости к поражению почек.

Во второй главе детально изложены организация и методы исследования. Работа выполнена в формате наблюдательного сравнительного контролируемого нерандомизированного неослеплённого исследования. Автор приводит характеристику обследованных групп, критерии включения и исключения, порядок получения биологического материала, перечень

применённых лабораторных технологий и подходы к статистической обработке результатов. Общий объём выборки составил 250 человек. В исследование вошли 100 пациентов с сахарным диабетом 1 типа, 100 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и 50 условно здоровых лиц, сформировавших контрольную группу. Для оценки изменений функционального состояния почек было предусмотрено повторное обследование пациентов через 12–18 месяцев. Молекулярно-генетическая часть работы включала генотипирование полиморфных вариантов CYP2C19 (G681A), CYP2E1 (G1293C), GSTP1 (Ile105Val) и GSTM1 (Ins/Del). Лабораторное обследование предусматривало определение креатинина, цистатина С, суточной альбуминурии, малонового диальдегида, а также активности глутатион-S-трансферазы, каталазы и супероксиддисмутазы. Совокупность использованных методов в целом позволяет решить сформулированные задачи и получить комплексную характеристику функции почек и состояния прооксидантно-антиоксидантной системы.

Третья глава содержит основной объём результатов собственного исследования. Первоначально автором проанализированы частоты встречаемости изучаемых генетических вариантов, проведена проверка их соответствия равновесию Харди — Вайнберга и выполнено сопоставление с доступными популяционными данными. В дальнейшем результаты генотипирования сопоставлены с показателями функционального состояния почек и окислительного статуса отдельно у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа. В группе пациентов с сахарным диабетом 1 типа получены данные о взаимосвязи гетерозиготных вариантов CYP2C19 (G681A) и CYP2E1 (G1293C) с гиперфилтрацией, альбуминурией и повышенным содержанием малонового диальдегида. Для полиморфных вариантов GSTP1 и GSTM1 выявленные ассоциации в большей степени касались характеристик окислительного статуса. Эти результаты дают основание обсуждать возможное участие генетически детерминированных особенностей биотрансформации и антиоксидантной защиты в формировании лабораторного фенотипа диабетического поражения

почек. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа наиболее отчётливые изменения зарегистрированы у носителей варианта Ile/Val полиморфизма Ile105Val гена GSTP1. В данной группе установлено увеличение суточной альбуминурии в 2,1 раза и малонового диальдегида в 1,4 раза при одновременном снижении скорости клубочковой фильтрации. Совокупность этих показателей позволила автору рассматривать указанный генетический вариант как потенциально значимый компонент лабораторной оценки риска поражения почек при сахарном диабете 2 типа.

Самостоятельный раздел третьей главы посвящён результатам динамического наблюдения. Несмотря на изменения отдельных функциональных показателей в обследованных группах, статистически значимой связи исследуемых генотипов с динамикой скорости клубочковой фильтрации и альбуминурии за период 12–18 месяцев установлено не было. Автор не выходит за пределы полученных данных и корректно отражает отрицательный результат в пятом выводе диссертации. Это представляется принципиально важным, поскольку позволяет разграничить ассоциации генетических вариантов с одномоментными лабораторными характеристиками и их возможное влияние на темпы последующего прогрессирования почечной дисфункции.

В четвёртой главе осуществлено обобщение выявленных взаимосвязей с использованием корреляционного анализа и бинарной логистической регрессии. Кроме того, в данной главе представлено обоснование разработанного автором диагностического алгоритма. При анализе объединённой выборки пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, включавшей 200 человек, наиболее значимые результаты получены в отношении варианта Ile/Val полиморфизма GSTP1. В регрессионную модель вошли скорость клубочковой фильтрации с отношением шансов 0,945 и 95% доверительным интервалом 0,90–0,98, а также суточная альбуминурия с отношением шансов 3,245 и 95% доверительным интервалом 1,038–10,56.

Площадь под ROC-кривой составила 0,8573, что указывает на достаточно высокую способность модели различать исследуемые состояния в пределах изученной выборки.

На основании результатов исследования автор предлагает дифференцированный порядок лабораторного обследования пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа. Алгоритм предусматривает последовательную оценку функционального состояния почек, проведение генетического тестирования и последующее исследование показателей окислительного статуса при обнаружении неблагоприятных генетических вариантов. Возможный порядок использования предложенного подхода продемонстрирован на двух клинических примерах. Приведённые случаи облегчают понимание алгоритма, хотя для определения его эффективности в широкой клинической практике необходима последующая проверка на независимых выборках.

В заключении автор систематизирует результаты проведённого исследования и сопоставляет их с опубликованными научными данными. Обсуждение построено с учётом принципов персонализированной клинической лабораторной диагностики и отражает стремление соискателя объединить традиционные показатели функции почек с молекулярно-генетическими и биохимическими характеристиками.

Сформулированные шесть выводов соответствуют цели и задачам исследования и непосредственно следуют из представленного фактического материала. Следует положительно отметить, что наряду с выявленными ассоциациями в выводах отражено отсутствие статистически значимой связи исследуемых генетических вариантов с краткосрочной динамикой скорости клубочковой фильтрации и альбуминурии. Практические рекомендации ориентированы на специалистов в области клинической лабораторной диагностики, эндокринологии и нефрологии. Перспективы дальнейшей разработки темы автор связывает с расширением панели исследуемых

маркеров, изучением эпигенетических механизмов и проведением последующей валидации разработанного комплексного алгоритма, что представляется логичным продолжением выполненной работы.

Апробация, публикации и соответствие специальности

Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на научных мероприятиях национального и международного уровня. В их числе IX (XXVIII) Национальный диабетологический конгресс, Второй Южно-Российский медицинский конгресс, конференция «Генетические технологии в трансляционной медицине», а также международный конгресс IFCC WORLDLAB 2024. Широкая география апробации свидетельствует о профессиональном интересе к рассматриваемой проблеме и возможности обсуждения полученных результатов со специалистами различных направлений.

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ. Три статьи представлены в рецензируемых научных журналах, включённых в перечень Высшей аттестационной комиссии Российской Федерации по специальности «Клиническая лабораторная диагностика», ещё шесть работ опубликованы в других ведущих рецензируемых изданиях. По результатам исследования получено пять патентов. Анализ публикационной активности позволяет сделать вывод о достаточном отражении основных положений и результатов диссертационной работы в научной печати.

Тематика диссертации соответствует специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика. Работа посвящена поиску, оценке и комбинированному применению лабораторных маркеров диабетического поражения почек, а её методическая основа включает молекулярно-генетические, биохимические и иммунохимические исследования. Существенное место занимает определение диагностической информативности сочетаний лабораторных показателей и разработка алгоритма их практического

применения, что непосредственно относится к области клинической лабораторной диагностики.

Диссертация характеризуется внутренней согласованностью. Поставленные задачи направлены на достижение заявленной цели, выбранные методы обеспечивают получение необходимых результатов, а выводы и практические рекомендации основаны на проведенном анализе. Все основные разделы содержательно связаны между собой, благодаря чему работа воспринимается как завершённое научное исследование.

Замечания и вопросы для обсуждения

В целом положительно оценивая выполненное исследование, считаю необходимым остановиться на ряде положений, которые представляют интерес для научной дискуссии.

1. Автором не установлена статистически значимая связь изученных полиморфных вариантов с изменением скорости клубочковой фильтрации и альбуминурии через 12–18 месяцев. Вместе с тем представленные данные свидетельствуют о статистически значимом снижении скорости клубочковой фильтрации у пациентов с сахарным диабетом 2 типа — с 70,0 до 58,0 мл/мин/1,73 м², а у пациентов с сахарным диабетом 1 типа отмечено достоверное увеличение протеинурии. В связи с этим возникает вопрос: чем можно объяснить наличие поперечных ассоциаций генетических маркеров с лабораторными признаками диабетического поражения почек при отсутствии их связи с динамикой указанных показателей? Возможно ли, что период наблюдения продолжительностью 12–18 месяцев был недостаточен для выявления генетически обусловленных различий в скорости прогрессирования почечной дисфункции?
2. У носителей гетерозиготных вариантов CYP2C19 (G681A) и CYP2E1 (G1293C) в группе пациентов с сахарным диабетом 1 типа установлено

повышение скорости клубочковой фильтрации до 129 мл/мин/1,73 м². В диссертации гиперфильтрация рассматривается как возможное раннее проявление патологического компенсаторного ответа. Однако повышенные значения расчётной скорости клубочковой фильтрации у молодых пациентов с сахарным диабетом 1 типа не во всех случаях позволяют однозначно прогнозировать неблагоприятное течение в ближайшей перспективе. Каким образом автор предлагает интерпретировать данный показатель в разработанном алгоритме: как самостоятельное основание для изменения лечебной тактики либо как фактор риска, требующий более частого лабораторного контроля и оценки в совокупности с альбуминурией и показателями окислительного статуса?

3. В практических рекомендациях предлагается определять варианты генов CYP2C19, CYP2E1 и GSTP1. Вместе с тем внедрение расширенного молекулярно-генетического исследования может быть ограничено доступностью ПЦР-диагностики и её стоимостью в отдельных медицинских организациях. С учётом того что наиболее убедительные результаты логистического моделирования получены для полиморфизма Ile105Val гена GSTP1, а площадь под ROC-кривой составила 0,8573, возможно ли использование данного маркера в качестве первоочередного теста? Целесообразно ли сформировать минимальную и расширенную панели генетического обследования в зависимости от лабораторных возможностей и исходного риска пациента?

Высказанные замечания и вопросы носят преимущественно дискуссионный и методический характер. Они не ставят под сомнение достоверность основных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы, но обозначают аспекты, требующие уточнения при дальнейшей апробации и валидации предложенного алгоритма.

Заключение

Диссертационная работа Костюшок Надежды Яновны «Молекулярно-генетические и биохимические маркеры диабетической нефропатии» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему. В результате проведённого исследования решена задача комплексного применения молекулярно-генетических и биохимических показателей для стратификации риска диабетического поражения почек, установлены особенности выявленных ассоциаций при сахарном диабете 1 и 2 типа и предложен дифференцированный алгоритм ранней лабораторной диагностики диабетической нефропатии, что имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики в частности и персонализированной медицины в целом.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, степени обоснованности и достоверности результатов, теоретической и практической значимости диссертация соответствует требованиям пунктов 9–14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Костюшок Надежда Яновна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики
Института непрерывного образования и профессионального развития
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Щербо Сергей Николаевич


(подпись)


(расшифровка подписи)

«31» 08 2026 г.

Контактные данные:



Адрес места работы: 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Телефон: +7 (903) 795-66-83; e-mail: shcherbos@mail.ru.