



**VILNIAUS UNIVERSITETAS
MEDICINOS FAKULTETAS
FACULTY OF MEDICINE, VILNIUS UNIVERSITY**

M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, Lithuania. Tel. +3705 239 8701; +3705 239 7800; Fax. +3705 239 8705

Review of the PhD Dissertation

Candidate: Shynar Sabitovna Muratbekova

Dissertation title: *Prognostic assessment of the influence of clinical and genetic factors on the risk and clinical course of spontaneous intracerebral haemorrhage in the main ethnic population of Kazakhstan*

Specialty: 8D10100 Medicine

This is a scientific review of the PhD dissertation submitted by Shynar Sabitovna Muratbekova, devoted to the prognostic assessment of clinical and genetic factors associated with the development and course of spontaneous intracerebral haemorrhage in the Kazakh population.

The topic of the dissertation is highly relevant from both scientific and public health perspectives. Spontaneous intracerebral haemorrhage remains one of the most severe forms of stroke, associated with high mortality and long-term disability. The importance of this work is further strengthened by the fact that population-specific data on intracerebral haemorrhage, especially in Central Asian populations, remain limited. In this context, the dissertation addresses an important gap by focusing on the Kazakh population and by integrating clinical, epidemiological and genetic factors into one analytical framework.

The dissertation has a clear structure and includes a literature review, materials and methods, results and discussion, conclusions, and appendices. The literature review is broad and up to date. It presents the epidemiology of intracerebral haemorrhage, the role of modifiable risk factors, the biological relevance of the COL4A2 gene, and the limitations of existing prognostic models. The review provides a sound rationale for the study and explains why population-specific research is needed for Kazakhstan and the broader Central Asian region.

The study was conducted in two stages. The first stage included a retrospective epidemiological analysis of 1,657 patients with verified intracerebral haemorrhage in the Karaganda region. The second stage was a case-control clinico-genetic study including 327 ethnic Kazakh participants, of whom 162 were patients with spontaneous intracerebral haemorrhage and 165 were controls. The inclusion and exclusion criteria are clearly described. The exclusion of secondary intracerebral haemorrhage, including traumatic, aneurysmal, tumour-related and anticoagulant-associated cases, strengthens the internal validity of the study. The ethical aspects of the research are adequately addressed.

The molecular-genetic component of the work focused on three single nucleotide polymorphisms of the COL4A2 gene: rs9521732, rs9521733 and rs9515199. Genotyping was performed using real-time PCR, and the dissertation includes appropriate quality-control procedures, including assessment of Hardy-Weinberg equilibrium in the control group. The statistical analysis is

comprehensive and includes univariate and multivariate logistic regression, analysis of inheritance models, correction for multiple testing, haplotype analysis, linkage disequilibrium analysis, ROC analysis, bootstrap validation, calibration assessment, Decision Curve Analysis, and evaluation of the incremental value of the genetic marker.

The main scientific result of the dissertation is the identification of an association between the rs9515199 polymorphism of the COL4A2 gene and the risk of spontaneous intracerebral haemorrhage in the Kazakh population. Of particular interest is the reported protective association of the C allele in this population, which is opposite to the direction described in European studies. This finding is scientifically interesting and supports the candidate's argument that genetic associations should not be directly extrapolated from European populations to admixed Central Asian populations without independent verification.

The dissertation also confirms the importance of established modifiable risk factors, particularly arterial hypertension, diabetes mellitus and moderate/heavy alcohol consumption. The observation that all patients with intracerebral haemorrhage had arterial hypertension underlines the central role of blood pressure control in primary prevention. The reported associations with diabetes mellitus and alcohol consumption are also clinically relevant and support the practical orientation of the work.

Another important contribution of the dissertation is the development of a prognostic risk score integrating clinical and genetic predictors. The model demonstrated strong discriminatory performance, with high AUC values and favourable sensitivity and negative predictive value. The author also performed internal validation using bootstrap methods and cross-validation, which improves the credibility of the model compared with a purely exploratory analysis.

At the same time, several limitations should be acknowledged.

- First, although the sample size is acceptable for a PhD-level candidate-gene study, it remains relatively small compared with international genetic association studies and does not allow strong conclusions regarding weaker genetic effects or detailed subgroup analyses.
- Second, the prognostic model was internally validated but has not yet been externally validated in an independent Kazakh cohort. Therefore, its clinical use should be considered preliminary until confirmed in larger multicentre studies.
- Third, the study included only three SNPs in COL4A2 and did not include genome-wide analysis or functional validation. Therefore, the biological mechanism underlying the observed protective association of rs9515199 remains hypothetical.
- Fourth, the case-control design is suitable for association testing but has limitations for estimating absolute population risk.
- Finally, the subgroup analysis by haemorrhage localization is limited by the small number of lobar and infratentorial cases.

These limitations do not diminish the overall value of the dissertation, but they should be clearly reflected in the interpretation of the findings. The candidate should avoid overstating the immediate clinical applicability of the risk score and should present it as a promising population-specific tool requiring further external validation.

Overall, the dissertation represents an original and relevant scientific work. It combines clinical neurology, epidemiology, molecular genetics and predictive modelling. The candidate demonstrates the ability to formulate a scientifically meaningful research question, collect and analyse clinical

and genetic data, apply appropriate statistical methods, interpret results in the context of international literature, and formulate conclusions with potential practical relevance.

The results of the dissertation have scientific novelty, particularly regarding the population-specific association of COL4A2 rs9515199 with intracerebral haemorrhage risk in the Kazakh population. The work also has practical relevance, as it highlights modifiable risk factors that can be addressed in primary prevention and proposes a risk stratification approach for further validation.

The dissertation meets the requirements for a PhD thesis in Medicine. I recommend the dissertation for public defence and support the awarding of the degree of Doctor of Philosophy (PhD) to Shynar Sabitovna Muratbekova, provided that the limitations of the study and the need for external validation are clearly acknowledged during the defence.

Prof., Dr. Vaiva Hendrixson, MD, PhD, MBA

Vilnius University, Faculty of Medicine

Institute of Biomedical Sciences, Vilnius, Lithuania



ВИЛЬНЮССКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ул. М. К. Чюрлёниса, 21/27, LT-03101, Вильнюс, Литва
Тел.: +3705 239 8701; +3705 239 7800; Факс: +3705 239 8705

ОТЗЫВ НА ДИССЕРТАЦИЮ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ PhD

Соискатель: *Муратбекова Шынар Сабитовна*

Название диссертации:

«Прогностическая оценка влияния клинико-генетических факторов на риск развития и характер течения спонтанного внутримозгового кровоизлияния в основной этнической популяции Казахстана.»

Специальность: 8D10100 - Медицина

Настоящий научный отзыв посвящён диссертации на соискание степени PhD, представленной Муратбековой Шынар Сабитовной, и посвящённой прогностической оценке клинических и генетических факторов, связанных с развитием и течением спонтанного внутримозгового кровоизлияния в казахской популяции.

Тема диссертации имеет высокую актуальность как с научной точки зрения, так и с точки зрения общественного здравоохранения. Спонтанное внутримозговое кровоизлияние остаётся одной из наиболее тяжёлых форм инсульта, ассоциированной с высокой летальностью и длительной нетрудоспособностью. Значимость данной работы дополнительно обусловлена тем, что популяционные данные о внутримозговом кровоизлиянии, особенно в популяциях Центральной Азии, остаются ограниченными. В этом контексте диссертация восполняет важный пробел, поскольку посвящена казахской популяции и объединяет клинические, эпидемиологические и генетические факторы в единой аналитической модели.

Диссертация имеет чёткую структуру и включает обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы и приложения. Обзор литературы является обширным и современным. В нём представлены эпидемиология внутримозгового кровоизлияния, роль модифицируемых факторов риска, биологическая значимость гена *COL4A2*, а также ограничения существующих прогностических моделей. Обзор обеспечивает обоснованную научную базу исследования и объясняет необходимость проведения популяционных исследований в Казахстане и более широком регионе Центральной Азии.

Исследование проводилось в два этапа. Первый этап включал ретроспективный эпидемиологический анализ 1 657 пациентов с верифицированным внутримозговым кровоизлиянием в Карагандинской области. Второй этап представлял собой клинико-генетическое исследование типа «случай–контроль», включавшее 327 этнических казахов, из которых 162 являлись пациентами со спонтанным внутримозговым кровоизлиянием, а 165 - контрольной группой. Критерии включения и исключения описаны чётко. Исключение вторичных внутримозговых кровоизлияний, включая травматические, аневризматические,

опухолевые случаи и случаи, связанные с приёмом антикоагулянтов, повышает внутреннюю валидность исследования. Этические аспекты исследования рассмотрены надлежащим образом.

Молекулярно-генетическая составляющая работы была сосредоточена на трёх однонуклеотидных полиморфизмах гена *COL4A2*: rs9521732, rs9521733 и rs9515199. Генотипирование проводилось методом ПЦР в реальном времени. В диссертации, представлены соответствующие процедуры контроля качества, включая оценку равновесия Харди-Вайнберга в контрольной группе. Статистический анализ является комплексным и включает однофакторную и многофакторную логистическую регрессию, анализ моделей наследования, коррекцию на множественные сравнения, гаплотипный анализ, анализ неравновесия по сцеплению, ROC-анализ, бутстрэп-валидацию, оценку калибровки, анализ кривых принятия решений (Decision Curve Analysis), а также оценку дополнительной прогностической ценности генетического маркера.

Основным научным результатом диссертации является выявление связи между полиморфизмом rs9515199 гена *COL4A2* и риском спонтанного внутримозгового кровоизлияния в казахской популяции. Особый интерес представляет выявленная защитная ассоциация аллеля С в данной популяции, которая имеет направление, противоположное описанному в исследованиях европейских популяций. Этот результат представляет научный интерес и подтверждает аргумент соискателя о том, что генетические ассоциации, выявленные в европейских популяциях, не следует напрямую экстраполировать на смешанные популяции Центральной Азии без независимой верификации.

Диссертация также подтверждает значимость установленных модифицируемых факторов риска, прежде всего артериальной гипертензии, сахарного диабета и умеренного/высокого потребления алкоголя. Наблюдение о наличии артериальной гипертензии у всех пациентов с внутримозговым кровоизлиянием подчёркивает центральную роль контроля артериального давления в первичной профилактике. Выявленные связи с сахарным диабетом и употреблением алкоголя также имеют клиническое значение и подтверждают практическую направленность работы.

Ещё одним важным вкладом диссертации является разработка прогностической шкалы риска, объединяющей клинические и генетические предикторы. Модель продемонстрировала высокую дискриминационную способность, характеризующуюся высокими значениями AUC, а также благоприятными показателями чувствительности и отрицательной прогностической ценности. Автор также провёл внутреннюю валидацию с использованием методов бутстрэп-анализа и перекрёстной валидации, что повышает достоверность модели по сравнению с исключительно поисковым анализом.

Вместе с тем следует отметить ряд ограничений.

Во-первых, несмотря на то что размер выборки является приемлемым для кандидатского исследования уровня диссертации PhD, он остаётся относительно небольшим по сравнению с международными исследованиями генетических ассоциаций и не позволяет делать убедительные выводы относительно более слабых генетических эффектов или проводить детальный анализ отдельных подгрупп.

Во-вторых, прогностическая модель прошла внутреннюю валидацию, однако ещё не была подвергнута внешней валидации на независимой казахской когорте. Поэтому её клиническое применение следует рассматривать как предварительное до подтверждения результатов в более крупных многоцентровых исследованиях.

В-третьих, исследование включало только три SNP гена *COL4A2* и не предусматривало полногеномного анализа или функциональной валидации. Поэтому биологический механизм, лежащий в основе выявленной защитной ассоциации rs9515199, остаётся гипотетическим.

В-четвёртых, дизайн исследования «случай–контроль» подходит для изучения ассоциаций, однако имеет ограничения при оценке абсолютного популяционного риска.

Наконец, анализ подгрупп по локализации кровоизлияния ограничен небольшим количеством случаев с долевым и инфратенториальным расположением кровоизлияния.

Указанные ограничения не снижают общей ценности диссертации, однако должны быть чётко отражены при интерпретации полученных результатов. Соискателю следует избегать преувеличения непосредственной клинической применимости шкалы риска и представить её как перспективный популяционно-специфичный инструмент, требующий дальнейшей внешней валидации.

В целом диссертация представляет собой оригинальную и актуальную научную работу. Она объединяет клиническую неврологию, эпидемиологию, молекулярную генетику и прогностическое моделирование. Соискатель демонстрирует способность формулировать научно значимую исследовательскую задачу, собирать и анализировать клинические и генетические данные, применять соответствующие статистические методы, интерпретировать результаты в контексте международной научной литературы и формулировать выводы, имеющие потенциальное практическое значение.

Результаты диссертации обладают научной новизной, особенно в части популяционно-специфичной ассоциации *COL4A2* rs9515199 с риском внутримозгового кровоизлияния в казахской популяции. Работа также имеет практическое значение, поскольку подчёркивает роль модифицируемых факторов риска, на которые можно воздействовать в рамках первичной профилактики, и предлагает подход к стратификации риска, требующий дальнейшей валидации.

Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени PhD по специальности «Медицина».

Рекомендую диссертацию к публичной защите и поддерживаю присуждение Муратбековой Шынар Сабитовне учёной степени Doctor of Philosophy (PhD) при условии, что ограничения исследования и необходимость внешней валидации будут чётко отражены в ходе защиты.

Проф., д-р Вайва Хендриксон, MD, PhD, MBA

Вильнюсский университет, Медицинский факультет

Институт биомедицинских наук

Профессор, Доктор Вайва Хендриксон.

Доктор медицины, Кандидат наук. Магистр делового администрирования

/Подпись/

Печать: / ВИЛЬНЮССКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ, 1/

Перевод с	<u>английского</u>
языка на	<u>русский</u>
выполнила	<u>Галина Александровна</u>
	<u>Галина</u>

СМОТРИТЕ НА ОБОРОТЕ

«25» сентября 2026 года. Я, Ким Александр Артёмьевич, нотариус нотариального округа Карагандинской области, лицензия №11003101 выдана «01» декабря 2011 года Комитетом регистрационной службы и оказания правовой помощи Министерства Юстиции Республики Казахстан, свидетельствую подлинность подписи переводчика Унанян Маргариты Владимировны. Личность переводчика установлена, дееспособность и полномочия проверены.

Зарегистрировано в реестре за №9159.
Взыскано: 2292 тенге



Нотариус

А.А. Ким

Жекеше / частный нотариус
Ким А.А.
лиц. № 11003101
01.12.2011 ж.



ST9502227260925125002G26547D

Нотариаттық іс-әрекеттің бірегей нөмірі / Уникальный номер нотариального действия