

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Павлиновой Елены Борисовны, проректора по учебной работе, заведующей кафедрой госпитальной педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Донникова Максима Юрьевича на тему «Эффективность ранней диагностики муковисцидоза у детей на региональном уровне (на примере ХМАО-Югры)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.08 – Педиатрия

Актуальность темы

Муковисцидоз – одно из самых частых тяжелых наследственных заболеваний человека с прогрессирующим течением и неблагоприятным прогнозом. В национальный регистр этого заболевания по состоянию на 2018 г. включены данные по 3 142 пациентам, каждый год в стране рождается около 650 детей с муковисцидозом. В последние десятилетия отмечается несомненный прогресс как в его диагностике, так и в лечении, что отражается в увеличении продолжительности жизни пациентов: медиана для родившихся в период 2014 – 2018 гг. оценивается в 33,8 лет, тогда как в конце 1990-х гг. составляла 25,4 лет. Со времени введения в 2006 г. в России ранней доклинической диагностики, основанной на проведении обязательного неонатального скрининга по протоколу ИРТ1 - ИРТ2 - потовый тест, прогноз заболевания значительно улучшился, что связано с ранним выявлением патологии и назначением адекватной базовой терапии. После введения неонатального скрининга детские врачи курируют две группы пациентов с муковисцидозом – с неонатальным скринингом и без него. Естественно, ранняя диагностика муковисцидоза, возможная после внедрения массового скрининга на всей территории России, должна изменить как ряд особенностей течения заболевания, так и терапевтические подходы. Важной в этой связи является необходимость сравнительного анализа клинических особенностей течения болезни и на этой основе – определения дифференцированных подходов к терапии, у пациентов с ранней диагностикой на основе скрининга и более поздним установлением диагноза до внедрения массового скрининга. Вместе с тем, оценка результатов неонатального скрининга базируется на сравнении уровней биохимического маркера иммунореактивного трипсиногена с фиксированными пороговыми значениями, рекомендованными производителями коммерческих наборов, без учета особенностей исследуемой популяции новорождённых детей. Это неизбежно

приводит к появлению как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов, и, соответственно, к гипо-/гипердиагностике муковисцидоза, что требует разработки новых подходов к оценке результатов.

Большое количество (более 2 000) мутаций и полиморфизмов в гене *CFTR*, определяющих фенотипические проявления заболевания, а также популяционная специфичность спектров мутаций диктует необходимость возможно более полного выявления генных мутаций и установления генетического диагноза как можно раньше после рождения ребенка с подозрением на муковисцидоз. Появление в клинике новых таргетных препаратов для патогенетически обоснованного лечения муковисцидоза (корректоры, потенциаторы хлорных каналов) также актуализирует необходимость быстрой генетической диагностики. Однако, существующие на региональном уровне трудности организационно-материального плана весьма затрудняют ее проведение у пациентов, проживающих удаленно от федеральных генетических центров. Это определяет необходимость поиска доступных для молекулярно-генетических лабораторий регионального уровня методов расшифровки типа мутации.

Учитывая вышеизложенное, актуальность диссертационного исследования Донникова М.Ю. несомненна, а поставленные автором цель и задачи исследования значимы для педиатрической науки и практики.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Исследование выполнено на высоком методическом уровне. Научные положения, вынесенные на рассмотрение научной аудитории, обоснованы и достоверны, что обусловлено представленным в диссертации объемом проведённой работы и использованием современных информативных методов исследования. Выполненные когортные сплошные исследования (как ретроспективные, так и проспективные), применение современных биохимических (определение уровня иммунореактивного трипсиногена в образцах сухой крови на бланках неонатального скрининга, потовый тест) и генетических методов (анализ кривых плавления высокого разрешения), секвенирование по Сэнгеру, MLPA) адекватны поставленным задачам. При анализе использовались качественные статистические методы обработки, что в совокупности с представительным объемом выборок позволило получить достоверные результаты, аргументированные выводы и практические рекомендации.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Автор провел исследования на достаточном количестве клинического материала, использовал широкий спектр современных методов медико-биологической статистики и математической обработки данных, включая разработанную программу ЭВМ. Выводы в

работе автора основаны на полученных достоверных результатах, опубликованы в печати и доложены на конференциях, результаты исследования внедрены в практику.

Соискателем проведена работа по изучению эпидемиологических особенностей муковисцидоза на территории ХМАО-Югры. При тщательном анализе данных регионального регистра пациентов с муковисцидозом был подтвержден рост как абсолютного числа больных, так и удельного веса пациентов с неонатальным скринингом. Автор установил, что более благоприятное течение заболевания стало возможным благодаря ранней диагностике на основе мероприятий неонатального скрининга и своевременному началу базисной терапии. Впервые были рассчитаны операционные характеристики неонатального скрининга на муковисцидоз в ХМАО-Югре (чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата) на широком временном отрезке (2006 – 2017 гг.) при использовании фиксированных пороговых значений иммунореактивного трипсиногена, рекомендованных производителем коммерческих наборов. Автором был разработан новый метод расчета «плавающих» пороговых значений этого маркера муковисцидоза, что позволило установить его региональные значения в популяции новорождённых детей ХМАО-Югры. В свою очередь, это позволило повысить специфичность НС на МВ до 99,6% с сохранением 100% чувствительности теста.

Впервые в РФ на первом этапе генной диагностики МВ был использован метод анализа кривых плавления высокого разрешения, и установлены его специфичность и чувствительность (100% и 97,3%, соответственно). Автор экспериментальным путем определил недостатки нового метода (невозможность выявления протяженных гетерозиготных делеций/инсерций и сложных перестроек в гене *CFTR*), но в то же время предложил комбинацию методик (анализ кривых плавления, секвенирование, MLPA), позволяющую провести расширенную генную диагностику муковисцидоза уже на региональном уровне. Такой подход позволил успешно расшифровать региональную структуру мутаций гена *CFTR* для всех пациентов с этим наследственным заболеванием в ХМАО-Югре, включенных в окружной регистр, по состоянию на 2019 год.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования не вызывают сомнения. Доказательная база диссертационной работы сформирована для достижения поставленной цели и решения заявленных задач.

Практическая значимость диссертационного исследования

Установленные автором показатели заболеваемости и распространённости муковисцидоза на региональном уровне, как и более благоприятное течение заболевания при ранней его диагностике на основе неонатального скрининга, важны для

практического здравоохранения с точки зрения планирования расходов на оказание специализированной и высокотехнологичной помощи этим пациентам.

Предложенный автором новый метод расчета региональных пороговых уровней иммунореактивного трипсиногена в рамках мероприятий массового неонатального скрининга на муковисцидоз позволяет значительно уменьшить количество ложноположительных результатов и связанные с необходимостью дальнейшего обследования (потовый тест, генная диагностика) расходы.

Применение разработанной компьютерной программы ЭВМ “Floating level of IRT” позволяет использовать ее в повседневной работе медико-генетической консультации, проводящей неонатальный скрининг на муковисцидоз, что определяется простотой и удобством интерфейса для конечного пользователя, возможностью агрегации обрабатываемых данных и статистической обработки.

Внедрение последовательности методик анализа кривых плавления высокого разрешения, секвенирования по Сэнгеру и MLPA на уровне региональной генетической лаборатории, оснащенной соответствующим минимумом необходимого оборудования, позволяет проводить в короткие сроки расширенную генную диагностику муковисцидоза без обращения пациентов в федеральный генетический центр.

Выносимые на защиту три положения являются рабочими гипотезами, которые в дальнейшем защищаются соискателем путем решения поставленных задач. Задачи и положения полностью согласуются с целью настоящего исследования.

Результаты научного исследования были внедрены в практику работы медико-генетической консультации БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии» и в учебный процесс на кафедре детских болезней медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет».

Материалы диссертации прошли достаточную апробацию в ряде научно-практических конференций регионального, всероссийского и международного уровня. Было получено свидетельство на программу ЭВМ. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Печатные работы автора полностью отражают основные результаты, полученные в диссертационном исследовании. Личное участие автора в выполнении данного научного исследования является определяющим.

Оценка содержания диссертации

Диссертация Донникова М.Ю. построена традиционно, изложена на 134 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 18 рисунками, 13 таблицами, включает два

клинических примера и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Список литературы представлен 237 современными источниками, из которых отечественных публикаций – 52, зарубежных авторов – 185.

Во введении сформулированы четко цель и задачи исследования, выделены научная новизна и практическая значимость работы, отражено внедрение результатов исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, указано количество и структура опубликованных работ.

В главе 1 (литературный обзор) проведен анализ наиболее значимых научных публикаций, посвященных диагностическим подходам при муковисцидозе, молекулярным основам дисфункции белка *CFTR*. Подробно описаны эпидемиология заболевания как в России, так и за рубежом, и диагностические подходы – такие, как неонатальный биохимический скрининг, потовый тест, этапы генной диагностики. Автор указывает на актуальные вопросы диагностики муковисцидоза (высокий уровень ложноположительных результатов неонатального скрининга, низкая доступность для регионов РФ и длительная расширенная генная диагностики заболевания), которые требуют решения.

Глава 2, описывающая материалы и методы исследования, содержит данные по общей характеристике пациентов с муковисцидозом, дизайн исследования, описание методов обследования, использованных в работе. В главе содержится полное представление об объемах проведенных исследований и соответствующих методах исследования. Подробно описана оригинальная методика выборки данных уровней маркера иммунореактивного трипсинагена для ретроспективного расчета плавающего порогового уровня, используя инновационный подход с помощью специализированной программы ЭВМ, разработанной автором.

Главы 3, 4, 5 посвящены собственным результатам исследования. В главе 3 проведен подробный анализ динамики клинико-эпидемиологических региональных особенностей муковисцидоза за 7-летний период ведения окружного регистра пациентов с этим заболеванием (2012 – 2018 гг.). По результатам анализа эпидемиологических показателей среди регионов УрФО выявлен самый высокий уровень распространенности этой патологии в ХМАО-Югре (3 случая на 100 000 населения). Показано, что после внедрения неонатального скрининга диагноз стал устанавливаться в большинстве случаев уже на 1-м году жизни. Автор доказал, что внедрение массового скрининга на муковисцидоз способствовало его ранней диагностике. Установлено, что ранняя базисная терапия заболевания сокращает потребность в пролонгированных курсах внутривенных и

пероральных антибактериальных препаратов и средств купирования бронхообструкции (ингаляционные бронхолитики и глюкокортикостероиды), а раннее начало базисной терапии способствует менее выраженному прогрессированию муковисцидоза, согласно показателям нутритивного статуса и функционального состояния легких.

В главе 4 приведены результаты исследования эффективности неонатального скрининга в ХМАО-Югре в период 2006 – 2017 гг. с момента его начала. Автором был определен средне-многолетний охват массовым скринингом, рассчитаны уровни чувствительности и специфичности, подтверждена основная проблема этого метода при использовании фиксированного порогового уровня иммунореактивного трипсиногена при первом его определении – высокое число ложноположительных результатов. Автор на ретроспективных данных обосновывает применение альтернативного подхода для расчета региональных уровней иммунореактивного трипсиногена – использование динамического «плавающего» порогового уровня. В проспективной части работы (2018 – 2019 гг.) было показано, что внедрение авторского подхода с использованием разработанной программы ЭВМ «Floating level of IRT» позволяет повысить специфичность скрининга за счет снижения числа ложноположительных результатов при сохранении 100% чувствительности.

Глава 5 представляет интерес в связи с обоснованием использования впервые в отечественной практике для генной диагностики МВ метода анализа кривых плавления, известного в развитых странах и не получившего пока, к сожалению, применения в России. Глава содержит структурированные результаты региональной генной диагностики с использованием предложенной автором комбинации трех последовательных методик – анализ кривых плавления высокого разрешения - секвенирования по Сэнгеру и MLPA, позволяющих провести расширенный анализ мутаций в гене *CFTR* уже на региональном уровне. Автор рассчитал специфичность и чувствительность метода анализа кривых плавления в генной диагностике МВ. С помощью такого подхода был установлен спектр мутаций всех пациентов с муковисцидозом, включённых в региональный регистр.

В заключении автор анализирует собственные результаты исследований достаточно подробно, с учетом детального описания результатов в трех главах собственных исследований.

Выводы логически вытекают из содержания диссертации, отражают новизну исследования и соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации носят конкретный характер и соответствуют результатам исследования. Диссертационная работа и автореферат оформлены в соответствии с существующими требованиями и изложена хорошим литературным языком. Автореферат соответствует тексту

диссертации, представляет краткое ее изложение и в полной мере отражает суть выполненной работы.

На основании изложенного выше считаю, что поставленная в диссертационном исследовании цель достигнута решением всех пяти задач. Это является подтверждением завершённости научно-квалификационной работы в целом.

Замечания

1. Отмечается излишняя подробность в изложении генетической части обзора литературы (глава 1.3), некоторые предложения немного громоздки и содержат много англицизмов, что затрудняет восприятие текста без подробных познаний в молекулярной генетике.

2. В тексте диссертации также имеются отдельные стилистические ошибки.

Данные замечания не принципиальны и не влияют на положительную оценку данной работы. В то же время в порядке дискуссии считаю необходимым получить от автора диссертации пояснения по следующим вопросам:

1. На чём основан выбор порогового значения иммунореактивного трипсиногена, равного 99,5 процентиллю всех показателей этого биохимического маркера в когорте новорождённых за определённый период?

2. Возможно ли в перспективе использование метода анализа кривых плавления высокого разрешения для генной диагностики других наследственных заболеваний?

Заключение

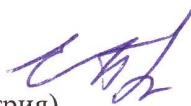
Вышеизложенное позволяет сделать вывод о том, что рецензируемая диссертация Донникова Максима Юрьевича на тему ««Эффективность ранней диагностики муковисцидоза у детей на региональном уровне (на примере ХМАО-Югры)», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Виталия Витальевича Мещерякова, представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая содержит решение важной для педиатрии научно-практической задачи по совершенствованию ранней диагностики муковисцидоза в региональных условиях на основе оптимизации неонатального скрининга и доступных для региона подходов к генной диагностике заболевания. Автором установлены эпидемиологические особенности муковисцидоза с момента начала проведения неонатального скрининга в регионе и охарактеризованы основные проявления клинического патоморфоза заболевания в условиях его ранней диагностики и своевременно начатой терапии. Использование инновационного подхода к оценке неонатального скрининга на основе метода «плавающего» порогового уровня иммунореактивного трипсиногена позволило повысить эффективность массового скрининга, а внедрение метода анализа кривых плавления

высокого разрешения - реализовать возможность расширенной генной диагностики на региональном уровне. Данные достижения возможно транслировать также на другие регионы России.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне и соответствует принципам доказательной медицины. По поставленной цели, задачам, методам исследования, контингенту пациентов, работа соответствует п.п. 3 и 5 паспорта научной специальности 14.01.08 – педиатрия. Диссертация и её автореферат соответствуют п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.13 (в действующей редакции), а её автор, Максим Юрьевич Донников, заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.08 – Педиатрия.

Официальный оппонент

заведующая кафедрой госпитальной педиатрии
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Омский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент
(научная специальность 14.01.08 – Педиатрия)



Павлинова Елена Борисовна

Подпись д.м.н., доцента Павлиновой Е.Б.

ЗАВЕРЯЮ

Проректор по административно-правовой
и кадровой работе

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России

Штейнборм Иван Геннадьевич

Контактные данные:

644099, Россия, г. Омск, ул. Ленина, 12

Телефон: +7 (3812) 957-701;

Эл. почта: rector@omsk-osma.ru

05.11.2020

