

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Красноярский государственный
медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Минздрава России

Партизана Железняка ул., д. 1, г. Красноярск, 660022
тел. 220-13-95 факс (391) 228-08-60, e-mail: rector@krasgmu.ru
ОКПО: 01962882 ОГРН: 1022402471992
ОКТМО: 04701000
ИНН/КПП: 2465015109/246501001

17 НОЯ 2020

№ 10-03-02/5558

На № _____ от _____



«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор д.м.н., профессор
Протопопов А.В.

«16» ноября 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на диссертационную работу Донникова Максима Юрьевича «Эффективность ранней диагностики муковисцидоза у детей на региональном уровне (на примере ХМАО-Югры)», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.08 - Педиатрия

Актуальность диссертационного исследования.

В течение последних лет в Российской Федерации на фоне совершенствования алгоритмов диагностики отмечен рост числа больных муковисцидозом преимущественно за счет детей раннего возраста. Знание эпидемиологии МВ важно для рационального планирования ресурсов здравоохранения по оказанию медицинской помощи пациентам на конкретной территории.

Внедрение неонатального скрининга (НС) способствовало существенному сокращению диагностического поиска и раннему началу терапии, однако прогноз заболевания по-прежнему существенно зависит от тяжести поражения органов дыхания. Используемый в России протокол НС «ИРТ-1/ИРТ-2/потова проба», характеризуется существенным числом ложноположительных тестов, особенно на этапе ИРТ-1. Для улучшения

организации лечебно-профилактических мероприятий необходимо проведение сравнительного анализа двух крупных когорт пациентов с диагнозом МВ – с НС и без НС с оптимизацией алгоритма оценки результатов биохимического НС.

Клинические проявления муковисцидоза разнообразны, поэтому Изучение особенностей течения МВ с ранней диагностикой заболевания на основе НС и без НС с более поздней постановкой диагноза определяют необходимость дифференцированного подхода при организации лечебно-профилактических мероприятий пациентам. .

Актуальность генетической диагностики с точной расшифровкой патогенных вариантов гена *CFTR* возрастает с появлением таргетных препаратов для лечения МВ, что позволяет радикально улучшить качество жизни пациентов с МВ.

Данное диссертационное исследование, согласно сведениям из диссертации и автореферата, осуществлялось в соответствии с планом научно-исследовательской работы Сургутского государственного университета в части реализации государственного задания «Генетические аспекты предиктивной, превентивной и персонифицированной медицины наследственных и возраст-ассоциированных заболеваний у человека на Севере» (Приказ Департамента образования и молодёжной политики ХМАО-Югры №1281 от 25.08.17; руководитель – д.м.н., проф. В.В. Мещеряков; период выполнения 2018-2020 г.г.).

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Обоснованность и достоверность научных положений не вызывают сомнения. Они обусловлены достаточным объемом клинического материала, логичным дизайном исследования, применением рациональных методов статистической обработки данных.

В процессе проведенного комплексного исследования установлены эпидемиологические особенности МВ на территории ХМАО-Югры и показано, что высокий уровень распространённости МВ связан с эффектом «накопления» пациентов с этим заболеванием в связи с высоким уровнем рождаемости и большим удельным весом детского населения в регионе.

Впервые получены новые данные по динамике количественного и качественного состава когорты детей с МВ в ХМАО-Югре - увеличение абсолютного числа детей и удельного веса пациентов с НС. Доказано, что возраст на момент постановки диагноза и длительность заболевания определяют клинические особенности течения МВ.

Автором установлено, что ранняя диагностика МВ на основе НС и раннее начало базисной терапии сопровождается клиническим патоморфозом заболевания, характеризующимся более благоприятным его течением.

Выявлены операционные характеристики НС МВ на территории ХМАО-Югры за все время с начала его проведения в 2006 г. - чувствительность и специфичность. Разработан инновационный метод определения «плавающего» порогового уровня ИРТ и компьютерная программа для его расчёта, что позволило повысить специфичность НС при сохранении его 100% чувствительности.

Автором, первые в РФ, внедрена методика анализа кривых плавления высокого разрешения (HRMA) для предварительного анализа патогенных вариантов в гене *CFTR* перед последующим избирательным секвенированием отдельных экзонов гена с целью полной расшифровки патогенных вариантов; проведена оценка специфичности и чувствительности нового подхода. Анализ всех пациентов из регионального регистра МВ позволил установить региональные особенности структуры мутаций в гене *CFTR*.

Значимость для науки и производства полученных автором результатов.

Установленные региональные эпидемиологические показатели при МВ позволяют рационально планировать кадровые и материальные ресурсы здравоохранения для обеспечения данной группы пациентов эффективной медицинской помощью. Охарактеризованы основные проявления клинического патоморфоза МВ у детей в условиях ранней его диагностики при проведении массового НС;

Обоснована целесообразность дифференцированного подхода в лечебно-диагностических мероприятиях для групп детей с ранней диагностикой МВ на основе НС и старшей группы детей с поздней диагностикой до внедрения НС.

Внедрение разработанной методики динамических пороговых уровней биохимического маркера ИРТ взамен фиксированного его значения и их автоматизированный расчет позволяют значительно снизить количество ложноположительных результатов НС на МВ, что сокращает затраты на дальнейшее обследование.

Внедренная методика анализа кривых плавления высокого разрешения (HRMA) с последующим избирательным секвенированием отдельных экзонов гена *CFTR* позволяют проводить расширенную генную диагностику МВ уже на уровне региональной медико-генетической консультации. Это позволяет изменить существующую практику направления из регионов

образцов биоматериала в федеральные генетические центры или коммерческие лаборатории.

Рекомендации по использованию результатов исследования.

Разработанная автором компьютерная программа “Floating Level of IRT” (Свидетельство РФ об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2017663099) может быть использована в региональных организациях медико-генетической помощи, осуществляющих биохимический НС новорождённых с целью объективизации оценки результатов скрининга и сокращения тем самым количества ложноположительных результатов теста.

Апробированный автором молекулярно-генетический тест HRMA (анализ кривых плавления высокого разрешения) с последующим избирательным секвенированием по Сэнгеру может быть использован для расширенной генной диагностики мутаций при муковисцидозе на уровне регионального медико-генетического центра, что снизит потребность в дорогостоящем и длительном исследовании в федеральном центре.

Данные результатов исследований клинического патоморфоза муковисцидоза у детей и особенностей региональной структуры мутаций в гене *CFTR* могут быть использованы в процессе обучения студентов и клинических ординаторов по специальностям «Педиатрия».

Основные практические аспекты диссертации обсуждены на международных и всероссийских конференциях. Автор подтвердил реализацию указанных выше разработок в практическом здравоохранении актами внедрения.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений.

В диссертации Донникова М.Ю. использованы такие общенаучные методы, как наблюдение, описание, измерение, сравнение. Для решения поставленных задач обоснованно использованы, кроме общеклинических, современные методы диагностики – биохимический неонатальный скрининг, молекулярно-генетические методики HRMA (анализ кривых плавления высокого разрешения) и секвенирование гена *CFTR*.

Диссертационное исследование Донникова М.Ю. структурировано и наглядно представлено в его дизайне. Количество единиц в группах наблюдения и сравнения достаточно для получения объективных результатов. При формировании групп корректно использован метод сплошной выборки. Все этапы исследования охарактеризованы с точки зрения доказательной медицины. При проведении статистической обработки автор применял непараметрические методы, в связи с несоответствием анализируемых числовых данных принципу нормального распределения. В

исследовании использован метод Манна-Уитни для сравнения средних величин в независимых выборках; метод ранговой корреляции для оценки связи между количественными показателями. Для оценки эффективности метода расчета плавающих пороговых уровней ИРТ проведен расчёт операционных характеристик диагностического теста – чувствительности, специфичности, прогностической значимости положительного и отрицательного результатов. Формулировка выводов и рекомендаций основана только на статистически значимых закономерностях. Это позволяет сделать вывод о высоком уровне достоверности полученных результатов.

Все результаты собственных исследований представлены автором в четырех публикациях профильных изданий списка ВАК для изложения основных результатов диссертаций на соискание учёной степени доктора и кандидата наук и устных докладах на научных форумах международного и российского уровней, получено Свидетельство РФ на программу для ЭВМ.

Структура диссертации классическая, соответствует Национальному стандарту РФ ГОСТ Р 7.0.11-2011 "Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления" (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. N 811-ст). Диссертация написана на 134 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, сокращений и приложений.

Глава «Введение» позволяет создать цельное впечатление о начной работе и ее результатах. Автор обосновывает актуальность выбранной темы необходимостью подробного изучения как эпидемиологических особенностей МВ в регионе ХМАО-Югры, так и разнообразия клинических проявлений заболевания, что обусловлено наличием двух крупных когорт пациентов – с НС и без него. Кроме того, внедрение НС в регионе все еще требует оптимизации подходов к оценке результатов скрининга вследствие высокого уровня ложноположительных результатов.

Обзор литературы по теме диссертации представляет собой анализ современных литературных источников по большинству аспектов проблемы МВ у детей. Подробно освещаются вопросы эпидемиологии МВ, сравнения регистров пациентов в РФ и в развитых странах. С учетом последних научных данных описаны этиология и патогенез МВ, классификация патогенных вариантов (мутаций) в гене *CFTR*, современные диагностические и лечебные подходы (в т.ч. генная диагностика и таргетная терапия МВ).

Глава 2 «Материалы и методы» подробно и наглядно излагает дизайн диссертационной работы, который представлен в графической форме (рис. 4), подробно описаны группы сравнения по возрасту детей с НС и без него с точки зрения их формирования, определены критерии включения и исключения. В главе описаны также использованные биохимические и генетические методы исследования. Представленные методы статистической обработки материала являются современными, а обоснование их применения показывает достаточные знания Донниковым М.Ю. медико-биологической статистики.

В трёх главах собственных исследований автор последовательно описывает результаты трёх этапов своей научной работы. В главе 3 на основе данных регионального регистра МВ проведен подробный статистический анализ эпидемиологических, клинико-лабораторных и функциональных особенностей МВ в динамике за период 2012 – 2018 гг. у детей в ХМАО-Югре в условиях внедрения массового НС. Стандартизация групп пациентов с НС и без НС по возрасту позволила провести сравнительный анализ клинических, лабораторных, функциональных показателей, а также лечебных подходов. Автор полагает, что клинический патоморфоз МВ в условиях проведения НС обусловлен ранним началом базисной терапии и менее выраженным прогрессированием заболевания по ряду показателей. В завершении главы 3 приведены два наглядных клинических примера, позволяющие оценить различия в течении МВ у детей с НС и без НС.

Глава 4 посвящена решению задачи по оптимизации оценки результатов НС и улучшению эффективности скрининга с использованием оригинальной методики расчета динамических «плавающих» пороговых уровней и референсных значений ИРТ – биохимического маркера НС на МВ. Автор приводит ретроспективные данные операционных характеристик теста ИРТ за 11-летний период проведения НС в ХМАО-Югре (2006 – 2017 гг.) с учетом фиксированных пороговых значений ИРТ. Использование разработанного с участием автора программного обеспечения (программы ЭВМ) в проспективном исследовании 2018 – 2019 гг. позволило значительно увеличить эффективность НС за счет снижения числа ложноположительных результатов в среднем на $\frac{3}{4}$ без ущерба качества диагностики МВ. Таким образом, диссертант существенно улучшил эффективность первого этапа НС МВ на региональном уровне.

Глава 5 описывает опыт проведения (от валидации до внедрения в повседневную клиническую практику) расширенной генной диагностики МВ на региональном уровне. Автором предложена комбинация генетических методик, последовательно используемых для выявления патогенных

вариантов (мутаций) в гене *CFTR*: практически неизвестный в РФ метод анализа кривых плавления (HRMA) с последующим избирательным секвенированием по Сэнгеру и MLPA. Используемый автором метод HRMA позиционируется автором в качестве первого этапа генетической диагностики МВ, обосновывается доступность его в региональных условиях. Кроме того, предложенный алгоритм был использован автором для расширенной генной диагностики всех пациентов из регистра МВ в ХМАО-Югре и позволил выявить весь спектр патогенных вариантов гена *CFTR*.

Заключение представляет собой обобщение и анализ полученных результатов. При этом автор сопоставляет свои результаты с имеющимися в литературе. Выводы сформулированы чётко, отражают новизну результатов исследования и соответствуют поставленным задачам – «одна задача – один вывод». Практические рекомендации направлены на решение конкретных практических проблем и вытекают из сути исследования М.Ю. Донникова.

Список литературы включает 237 источников, из которых 52 отечественных авторов, 182 – зарубежных. Диссертация иллюстрирована 18-ю рисунками и 13-ю таблицами. Приведённые автором клинические примеры являются показательными с точки зрения полученных результатов. Достоинством диссертации является подробное представление клинической характеристики групп наблюдения и включение в работу этапов с использованием новых генетических технологий.

В целом, структура диссертации, ее содержание и последовательность изложения материала характеризуются внутренним единством, направленным на достижение цели и выполнение поставленных в исследовании задач.

Замечания:

Автор не упоминает о том, что пациенты с положительным результатом НС и промежуточными результатами потового теста (в «серой зоне») относятся к категории пациентов CFSPID (с положительным результатом НС и неокончательным диагнозом), хотя подобные дети формируют существенную когорту, находящуюся под динамическим наблюдением специалистов.

Заключение.

Диссертация Донникова Максима Юрьевича «Эффективность ранней диагностики муковисцидоза у детей на региональном уровне (на примере ХМАО-Югры)» (научный руководитель – д.м.н., профессор В.В. Мещеряков) решает актуальную научно-практическую задачу в области педиатрии по оптимизации ранней диагностики муковисцидоза у детей. Диссертационное исследование характеризуется внутренней связностью, заявленная цель

достигнута решением представленных задач. Замечания по работе не преуменьшают значимость диссертации и носят скорее формальный характер. Диссертация Донникова М.Ю. является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности, новизне и практической значимости соответствует п. 9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.13 (в редакции, действующей на момент написания настоящего отзыва), паспорту специальности 14.01.08 – Педиатрия (п.п. 3 и 5), что является основанием для присуждения Донникову Максиму Юрьевичу учёной степени кандидата медицинских наук по научной специальности 14.01.08 – Педиатрия.

Диссертация обсуждалась на заседании кафедры детских болезней с курсом ПО, протокол №3 от 16.11. 2020 г. (председатель – д.м.н., проф. Ильенкова Н.А.). В обсуждении приняли участие 1 докторов, 8 кандидатов наук по специальности 14.01.08 – Педиатрия. Представленное заключение о диссертации М.Ю. Донникова принято единогласным решением.

Заведующая кафедрой детских болезней с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России доктор медицинских наук (14.01.08; 14.01.25), профессор

Ильенкова Наталья Анатольевна

«16» ноября 2020 г.

Подпись проф. Ильенковой Н.А.

«ЗАВЕРЯЮ»

Начальник управления кадров
ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф.

В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

Челнаков Денис Владиславович

«16» ноября 2020 г.

660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

телефон: +7 (391) 220-13-95

e-mail: rector@krasgmu.ru

