

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН



О.П. Ковтун

2024г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы Лошковой Елены Владимировны «Клинико-иммунологические и генетические особенности хронических воспалительных заболеваний у детей. Оптимизация профилактических стратегий», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия

Актуальность темы диссертации

Хроническое воспаление у детей связано с процессом развития многих заболеваний в детском возрасте, включая сахарный диабет, целиакию, хронический аутоиммунный тиреоидит, муковисцидоз, хронический пиелонефрит, ожирение с метаболическим синдромом, ювенильный идиопатический артрит, бронхиальную астму и другие. Изучение цитокиновой продукции (IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , INF- γ , IL-4, IL-10), метаболизма витамина D (25(OH)D) как составного компонента иммунного ответа и их генетической регуляции (*IL1B* C(+3953)T, *IL1RN**VNTR, *TNFA**G-308A, *VDR*), при заболеваниях с различными механизмами воспаления у детей с использованием ранее не применявшегося подхода, а именно выделения моделей воспаления необходимо для прогнозирования течения заболеваний, оценки риска реализации возможных осложнений, в том числе, однотипных для разных болезней, а также ожидаемого ответа на терапию для разработки профилактических стратегий.

Данные клинических наблюдений на протяжении более 10 лет с подробной характеристикой заболеваний по клинической симптоматике, формам, степени тяжести, структуре осложнений и синтропных заболеваний

нужны при планировании реабилитационных и профилактических мероприятий по оказанию медицинской помощи больным с изучаемыми заболеваниями, в том числе, для организации дифференцированной профилактики гиповитаминоза D.

Цитокины играют важную роль в развитии острого и хронического воспаления, являясь его интегративным показателем, 25(OH)D, в свою очередь, контролирует иммунные реакции на всех этапах воспалительного процесса. При этом, нарушение продукции цитокинов и негативное влияние низкой обеспеченности 25(OH)D ассоциировано с активностью воспаления на фоне изучаемых заболеваний, а значит может влиять на их течение заболеваний и прогноз в детском возрасте.

Проблема обеспеченности витамином D актуальна для всех континентов и активно изучается во всем мире, исследователи делают акцент на структуру обеспеченности нутриентом в группах риска, этнические особенности популяций и генетическую восприимчивость к саплементации, с учетом отдельных экзогенных и эндогенных факторов.

Учитывая роль витамина D как фактора, модулирующего процесс воспаления, важно анализировать обеспеченность им в крупных педиатрических когортах на территории РФ, в связи с негативными долгосрочными эффектами его низкого содержания. Необходимо уточнение профилактических доз витамина D для практически здоровых, а также детей с хроническими заболеваниями, поскольку без таргетных профилактических стратегий шансы на успех в нормализации уровня витамина D у детей минимальны.

Таким образом, диссертационная работа, выполненная Еленой Владимировной Лошковой, направленная на изучение вклада генетических вариантов генов цитокинов и гена рецептора витамина D в течение заболеваний с различными механизмами воспаления у детей (аутоиммунное, лимфопролиферативное, микробное, метаболическое, аллергическое), их проявлений и осложнений, в том числе однотипных, а также углубляющая представления об иммунном звене их патогенеза и позволяющая предложить методы прогнозирования течения этих патологических состояний и подходы к их профилактике является актуальной, востребованной, стратегически важной и направленной на преодоление существующего дефицита научных знаний по данной проблеме.

Научная и практическая ценность диссертации

По результатам долгосрочного исследования получены клинические данные с характеристикой изучаемых заболеваний по клинической форме, степени тяжести, структуре осложнений и коморбидной, синтропной патоло-

гии, которые необходимы для выстраивания тактики дальнейшего наблюдения и планирования мероприятий по оказанию специализированной медицинской помощи детям с изучаемыми нозологиями, начиная с этапа постановки диагноза и заканчивая реабилитацией. Автором получены новые научные знания о механизмах формирования хронического воспаления в детском возрасте и возможностей прогнозирования течения заболеваний, развития осложнений, а также организации дифференцированной профилактики гиповитаминоза D. Лошковой Е.В, разработана и научно обоснована новая концепция использования моделей воспаления, (аутоиммунная, лимфопролиферативная, микробно-воспалительная, метаболическая, аллергическая) базирующаяся на изучении цитокинового воспаления и его молекулярно-генетического контроля, предложены новые предикторы (цитокины, кальцидиол, генотипы полиморфных вариантов генов иммунного ответа (ТТ гена *IL1B* C(+3953)T, A2A2 гена *IL1RN*VNTR*, GG гена *TNFA*G-308A*, ТТ полиморфного варианта с.1206T>C(A>G) TaqI гена *VDR*, AA полиморфизма BsmI (с.1174+283G>A) гена *VDR*, ТТ полиморфизма с.152T>C FokI гена *VDR*) для прогнозирования течения изучаемых заболеваний и их осложнений. Установлены генотипы генов цитокинов и *VDR*, предрасполагающие к развитию микробно - воспалительных заболеваний, их проявлений, а также общих осложнений (нарушение функции почек, артериальная гипертензия, грамотрицательная бактериальная инфекция) на фоне заболеваний с различным генезом воспаления.

По результатам проведенного исследования решена научная проблема определения прогностических маркеров формирования неблагоприятного течения хронических воспалительных заболеваний, формирования общих осложнений, установлены потенциальные мишени антицитокиновой терапии и выделены три генотипа генов цитокинов (ТТ гена *IL1B* C(+3953)T, A2A2 гена *IL1RN*VNTR*, GG гена *TNFA*G-308A*) с повышенной экспрессией соответствующего цитокина (IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α). Полученные результаты существенно дополняют знания о роли регуляторной функции иммунной системы при различных видах воспаления.

Разработан новый научно-обоснованный подход в стратегии профилактики гиповитаминоза D. Получены новые данные о частоте низкой обеспеченности витамином D среди многочисленной когорты здоровых детей и при хронической патологии. На примере двух дизайнов исследований показана высокая частота низкой обеспеченности витамином D среди здоровых детей до 18 лет, особенно в зимний период, несмотря на проведение саплементации профилактическими дозами холекальциферола, что делает целесообразным обследование детей всех возрастов в зимний период для определения уровня

кальцидиола. Научно обосновано определение уровня 25(OH)D среди практически здоровых детей старше 4-х лет в зимний сезон года и круглогодичное мониторирование уровня 25(OH)D при хронической патологии у детей, так как низкая концентрация кальцидиола наблюдается круглогодично и плохо поддается коррекции рекомендуемыми профилактическими дозами холекальциферола.

Автором диссертационной работы выделены хронические заболевания с высокой частотой гиповитаминоза D. При планировании программы диспансеризации детей с высокой частотой низкой обеспеченности витамином D рекомендуется ежегодное исследование уровня 25(OH)D при таких заболеваниях как церебральный паралич, воспалительные заболевания кишечника, дети, имевшие в анамнезе заболевания перинатального периода, онкологические заболевания, хроническая болезнь почек, ЮИА, недоношенные дети, сахарный диабет 1 типа.

Дана комплексная оценка влияния экзогенных и эндогенных, в том числе, генетических факторов на обеспеченность витамином D при различных заболеваниях у детей. Обоснован дифференцированный подход к профилактике низкой обеспеченности 25(OH)D при муковисцидозе (МВ), бронхиальной астме (БА) и ювенильном идиопатическом артрите (ЮИА) на основе комплексного изучения экзогенных, эндогенных и генетических факторов. Разработаны алгоритмы диагностики, персонализированной профилактики недостаточности витамина D с учетом сезона года, возраста, состояния здоровья ребенка и генетических маркеров, влияющих на эффективность саплементации холекальциферолом при МВ, БА, ЮИА. Пациентам с МВ, БА и ЮИА, имеющим снижение уровня 25(OH)D, неудовлетворительный ответ на саплементацию витамином D, показано определение: генотипа ТТ полиморфного варианта с.1206Т>С(А>G) TaqI, и генотипа АА полиморфизма BsmII (с.1174+283G>A) гена *VDR*, а для МВ – дополнительно генотипа ТТ полиморфизма с.152Т>С FokI гена *VDR* для персонализированной коррекции профилактической и лечебной дозы холекальциферола.

Полученные результаты могут использоваться не только в педиатрической практике, но и в смежных детских специальностях (нефрология, гастроэнтерология, пульмонология, онкогематология, ревматология, эндокринология) и направлены на совершенствование медицинской помощи детям с хроническими заболеваниями, способствуя внедрению новых технологий молекулярной диагностики и дифференцированного подхода к профилактике гиповитаминоза D в клинической практике. Таким образом, по научной и практической значимости результаты диссертационного исследования Лошковой Е.В. заслуживают высокой оценки.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

При оказании специализированной медицинской помощи детям с изучаемыми заболеваниями рекомендовано определение вариантов генов *IL1B* C(+3953)T, *IL1RN**VNTR, *TNFA**G-308A для уточнения прогноза неблагоприятных исходов (формирование нарушений функции почек, артериальной гипертензии, граммотрицательной инфекции) с целью оптимизации лечебной тактики. На амбулаторном этапе оказания медицинской помощи детям с МВ, БА и ЮИА при наличии неудовлетворительного ответа на саплементацию холекальциферолом показано определение генотипов полиморфизмов с.1206T>C(A>G) TaqI, с.152T>C FokI, BsmI (с.1174+283G>A) гена *VDR*. Обосновано проведение лабораторного мониторинга уровня кальцидиол и коррекции его нарушений у здоровых детей и пациентов с МВ, БА и ЮИА.

Основные положения и выводы диссертации Лошковой Е.В. рекомендуется использовать в учебном процессе в дополнительных профессиональных программах профессиональной переподготовки и повышения квалификации врачей, а также в рамках аккредитации специалистов по специальности педиатрия, а также в программах обучения студентов медицинских ВУЗов и врачей-ординаторов. Кроме того, полученные результаты и практические рекомендации необходимо применять в практической деятельности врачей-педиатров первичного звена здравоохранения и при оказании специализированной медицинской помощи в регионах Российской Федерации.

Полученные результаты исследования представлены в материалах двух монографий и клинических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения РФ.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Достоверность выводов диссертационной работы Лошковой Е.В. базируется на достаточной по количеству выборке обследованных, применении современных методов обследования пациентов и актуальных методов научных исследований, в частности, иммунологических и молекулярно-генетических, унифицированных критериев оценки полученных результатов, использовании корректных современных методов статистического анализа, позволивших выявить соответствующие закономерности и сформулировать достоверные выводы, которые полностью соответствуют цели, задачам и положениям, выносимым на защиту.

Диссертация Лошковой Е.В. выполнена на большом клиническом материале, подробно представлены критерии включения и исключения из исследования. Автором обследовано 1629 пациентов с хроническими заболеваниями и 565 практически здоровых детей, выполнено 4980 исследований на 1 этапе и 4171 исследование на 2 этапе работы.

Статистическая обработка проведена грамотно, включает параметрические и непараметрические методы исследования, определения критерия Фишера, ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к заболеваниям оценивались по величине отношения шансов (odds ratio, OR), доверительный интервал (ДИ) для OR вычислялся по методу Woolf.

Работа Лошковой Е.В. оригинальна и характеризуется высокой степенью научной новизны. Автором по результатам ретро- и проспективных исследований на большом клиническом материале (на примере отдельных заболеваний: сахарный диабет 1 типа, целиакия, хронический аутоиммунный тиреоидит, муковисцидоз, хронический пиелонефрит, онкогематологические заболевания, ожирение, снижение минеральной плотности кости, бронхиальная астма, а также аутоиммунной, лимфопролиферативной, микробной, метаболической и аллергической моделей воспаления) выявлены особенности воспалительных реакций и впервые определены клинические и прогностические (иммунологические и генетические) факторы формирования фенотипов, изучаемых заболеваний, и факторы риска неблагоприятных исходов хронических заболеваний в детском возрасте.

В диссертационной работе Лошковой Е.В. впервые применен подход формирования моделей воспаления (аутоиммунной, микробной, метаболической, аллергической и лимфопролиферативной), что позволяет выявить особенности цитокинового профиля и генетического контроля воспаления при хронических заболеваниях у детей. На основе применения подхода «изучение влияния гена на продукт его экспрессии – цитокин – фенотип заболевания» впервые определены молекулярные предикторы (наличие генотипа A2A2 гена *IL1RN*VNTR*, повышенная выработка провоспалительных цитокинов ($IL-1\beta$, $TNF-\alpha$)) неблагоприятного течения хронических воспалительных заболеваний в детском возрасте с формированием общих осложнений (нарушение функции почек, артериальная гипертензия, граммотрицательная бактериальная инфекция).

Лошковой Е.В. дана комплексная оценка эпигенетических факторов на обеспеченность витамином D здоровых детей и детей с хроническими воспалительными заболеваниями. Новым в научно-квалификационной работе является выявление низкой обеспеченности витамином D у детей и подростков на основе двух дизайнов исследования.

В исследовании использовался дизайн одномоментного неконтролируемого, диагностического кросс-секционного исследования, включившего 1501 ребенка Московского региона и второй примененный дизайн - открытое, проспективное, многоцентровое, нерандомизированное, когортное с включением 593 детей (283 с муковисцидозом, 160 с бронхиальной астмой, 150 с ювенильным идиопатическим артритом и 333 здоровых ребенка). Установлено низкое содержание 25(ОН)D у детей различного возраста, проживающих в Московском регионе, с учетом эндогенных факторов (пол, возраст, наличие или отсутствия патологических состояний и заболеваний) и экзогенных факторов (сезон года, продолжительность солнечного сияния). Исследование подтвердило ранее полученные данные по высокой частоте гиповитаминоза D среди здоровых детей (81,3%). На примере трех регионов страны (Московский регион, Красноярский край, Ставропольский край) подтверждена зависимость уровня 25(ОН)D от возраста и времени года.

Впервые в многочисленной когорте детей Московского региона были получены данные о низкой обеспеченности витамином D с учетом классов и отдельных заболеваний согласно классификации МКБ-10, возраста пациентов и сезона года и выделены группы риска по недостаточности и дефициту витамина D: церебральный паралич (100,0%), воспалительные заболевания кишечника (96,6%), дети, имевшие в анамнезе заболевания перинатального периода (95,3%), новообразования (95,1%), хроническая болезнь почек (93,5%), ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) (87,9%), недоношенные дети (84,0%), сахарный диабет 1 типа (70,8%).

Кроме того, впервые в многоцентровом исследовании изучена обеспеченность витамином D при муковисцидозе (МВ), бронхиальной астме (БА), ювенильном идиопатическом артрите (ЮИА) и у здоровых детей с учетом влияния экзогенных и эндогенных факторов. Установлены молекулярные предикторы (полиморфизмы гена *VDR*) формирования «тяжелых» фенотипов изучаемых заболеваний, их осложнений и резистентности к саплементации холекальциферолом.

Выводы раскрывают цель работы, логично вытекают из поставленных задач исследования. Практические рекомендации обоснованы, подкреплены результатами проведенных автором исследований и могут использоваться в работе детских учреждений здравоохранения. Рекомендации направлены на прогнозирование и профилактику неблагоприятных исходов хронических воспалительных заболеваний. Рекомендованы и последовательно изложены принципы коррекции недостаточной обеспеченности витамином D при хронических заболеваниях у детей.

Автор научно-квалификационной работы представляет результаты, определяющие новизну исследования в рамках специальности 3.1.21 - Педиатрия и областей исследования п. 3 «Оптимизация научно-исследовательских подходов и практических принципов ведения – диагностики, профилактики, лечения, абилитации и реабилитации, а также сопровождения детей с хроническими рецидивирующими болезнями, острой патологией, подвергшихся воздействию внешних факторов, в том числе экологических и социальных. Формирование моделей и параметров оценки ведения пациента и подходов к аудиту осуществленного объема вмешательств и качества оказываемой медицинской деятельности», п. 5 «Разработка научных, методологических и практических подходов к ведению детей с врожденными пороками развития, наследственно обусловленными болезнями и нарушениями обмена веществ».

Научно-квалификационная работа Лошковой Е.В. выполнена при частичном финансировании различных грантов: гранта ФЦП №16.740.11.0482 от 13.05.2011 г. «Изучение эффектов генов модификаторов иммунного ответа на различных моделях воспаления в детском возрасте»; грантов РФФИ № 10-04-10126 «Организация и проведение экспедиционных работ в Краснодарском крае»; № 09-04-00732-а «Генетические и иммунологические механизмы воспалительного процесса при целиакии. Роль HLA и не HLA- зависимых генетических маркеров»; темы ФГБНУ «МГНЦ» «Разработка технологий персонализированной диагностики и терапии при муковисцидозе АААА-А18-118081390036-6», №А 18-015-00482 «Изучение влияния генетических и экологических факторов на развитие дефицита витамина D у здоровых детей и детей с муковисцидозом в возрастном аспекте».

В заключении необходимо отметить, что новизна результатов исследования, основных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Лошковой Е.В., не вызывает сомнений.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы и полнота изложения результатов в научной печати

Диссертационная работа Лошковой Е.В. выполнена в классическом стиле и представляет собой завершенное исследование, оформлена в соответствии с ГОСТом Р 7.0.11-2011, изложена на 482 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований (3-6 главы) и их обсуждений (7 глава), выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 589 источников, из них 54 отечественных и 535 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 175 таблицами и 49 рисунками.

Обзор литературы, представленный автором, написан на 58 страницах, включает полную информацию о современном состоянии изучаемой проблемы, позволяет судить о новизне полученных в работе результатов и отражает суть обсуждаемых проблем. Глава «Материалы и методы исследования» включает полную информацию об критериях включения и исключения в исследование, используемых методах, описание объема выборки и подробная характеристика методов статистической обработки.

Материал диссертационной работы анализируется последовательно в соответствии с поставленной целью и задачами, в 3 главе автор дает характеристику продукции цитокинов в зависимости от особенностей клинической картины при отдельных заболеваниях, моделях воспаления и одноклеточных осложнениях, с учетом клинко-патогенетических особенностей каждого заболевания.

Четвертая глава описывает генетическую регуляцию продукции цитокинов при изучаемых заболеваниях, их осложнениях и моделях воспаления. В 5 главе Лошкова Е.В. дает характеристику обеспеченности витамином D в большой выборке детей (1501 человек общей когорты, проживающих в Москве и Московской области и 926 детей, принявших участие в многоцентровом исследовании). Шестая глава посвящена характеристике эффектов гена *VDR* в отношении клинических проявлений, осложнений, обеспеченности витамином D и эффективности саплементации витамином D на примере моделей воспаления. В главе 7 автор приводит подробное обсуждение всех полученных результатов. Главы написаны хорошим литературным языком.

Выводы сформулированы четко, логично и соответствуют поставленной цели и задачам. Рекомендации для практического здравоохранения являются хорошо сформулированными и логично вытекают из полученных результатов исследования. В заключении Лошкова Е.В. в краткой форме делает анализ результатов, полученных при выполнении работы и приводит их интерпретацию.

Аннотация отражает содержание и основные положения диссертационной работы. По результатам проведенного анализа диссертационной работы и аннотации, принципиальных замечаний к их содержанию и оформлению нет. Структура и оформление диссертации и аннотации соответствует требованиям ГОСТ.

Диссертация построена логично, её структура и содержание полностью соответствуют целям и задачам исследования. Приведенные сведения о степени личного вклада автора позволяют заключить, что работа выполнена им в максимальном объеме, включая самостоятельную реализацию части

иммунологических и молекулярно-генетических исследований и заканчивая аналитикой и статистической обработкой полученных результатов. Автореферат полностью соответствует содержанию работы.

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 38 статьях, в рецензируемых научных журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки России, (из них 24 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования: Scopus, Web of Science, Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO Publishing, East View Information Services, Research Gate, Google Scholar, в том числе Q1 – 2, Q3 – 8, Q 4 – 13, а также 15 тезисов), кроме того, результаты работы представлены в материалах двух монографий и клинических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения РФ.

Замечания по диссертационной работе и вопросы диссертанту

Принципиальных замечаний по диссертации нет. Работа заслуживает положительной оценки. В качестве обсуждения хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. Правомочно ли результаты изучения 3-х заболеваний в отношении роли экзогенных и эндогенных факторов в развитии гиповитаминоза D экстраполировать на 3-и модели воспаления, в каждую из которых входят ряд других заболеваний, различных по сочетаниям цитокинов и выявленным генотипам.
2. Каким детям с тяжелым течением хронических воспалительных заболеваний и возможностью формирования осложнений необходимо проводить генетическое исследование для выявления провоспалительной модуляции иммунного ответа. Какова маршрутизация пациентов при обнаружении минорных генов и в чем заключается профилактика возможных осложнений.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Лошковой Елены Владимировны «Клинико-иммунологические и генетические особенности хронических воспалительных заболеваний у детей. Оптимизация профилактических стратегий», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия, является законченной научно—квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Елены Ивановны Кондратьевой, которая содержит новое решение актуальной научной проблемы — совершенствование оказания медицинской помощи детям с хроническими заболеваниями.

В работе содержится решение актуальной научной проблемы по установлению клинических эффектов цитокинов, 25(OH)D и генов модификаторов иммунного ответа на примере различных моделей воспаления и разработке новых диагностических и профилактических подходов. Представлена и научно обоснована программа персонализированной коррекции нарушений уровня кальцидиола среди здоровых детей и детей с хроническими заболеваниями. Решение данной проблемы имеет высокую значимость для научной и практической педиатрии.

Научно-квалификационная работа Лошковой Елены Владимировны по своей актуальности, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов, теоретической и практической значимости соответствует критериям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями и дополнениями от 25.01.2024г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а соискатель достоин ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия.

Диссертация и отзыв обсуждены и утверждены на заседании кафедры поликлинической педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол №__6__от «_18_» августа__2024 г).

Заведующий кафедрой поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации



С.А. Царькова

Подпись доктора медицинских наук, профессора С.А. Царьковой заверяю:

Ведущий специалист по работе с персоналом

Управления кадровой политики ФГБОУ ВО УГМУ

Минздрава России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 620028, г. Екатеринбург, ул. Вепкина, 3, телефон +7(343)2148652, e-mail usma@usma.ru

