

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, профессора,
ЗДН РФ Вялковой Альбины Александровны на диссертацию
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 исследования

Хроническое воспаление у детей связано с процессом развития многих заболеваний, включая хронический аутоиммунный тиреоидит (ХАИТ), муковисцидоз (МВ), хронический пиелонефрит (ХП), ожирение (ОЖ) с метаболическим синдромом, ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), сахарный диабет 1 типа (СД 1 типа), целиакию (Ц) бронхиальную астму (БА) и другие патологические состояния.

Разработка моделей хронического воспаления при заболеваниях с различными механизмами воспаления у детей на основе оценки 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 в комплексе с определением их генетической регуляции (*IL1B* C(+3953)T, *IL1RN* VNTR, *TNFA**G-308A, *VDR*) перспективно для прогнозирования течения заболеваний, выявления риска реализации возможных осложнений (в том числе одноклассных для разных болезней), а также ожидаемого ответа на терапию для разработки профилактических стратегий.

Известно, что цитокины играют важную роль в развитии острого и хронического воспаления, являясь его интегративным показателем; 25(OH)D контролирует иммунные реакции на всех этапах воспалительного процесса. При этом, нарушение выработки цитокинов и негативное влияние низкой обеспеченности 25(OH)D ассоциировано с активностью воспаления на фоне ряда заболеваний, таких как сахарный диабет, целиакия, хронический аутоиммунный тиреоидит, муковисцидоз, хронический пиелонефрит, ожирение, ювенильный идиопатический артрит, бронхиальная астма, и, следовательно, влияет на их течение и прогноз исхода.

Учитывая роль витамина D как фактора, модулирующего процесс воспаления, а также в связи с негативными долгосрочными эффектами его низкого содержания важно проанализировать обеспеченность витамином D детей, проживающих в крупных педиатрических когортах на территории РФ.

Необходимо уточнение профилактических доз витамина D для практически здоровых детей, а также пациентов с хроническими заболеваниями, поскольку без таргетных профилактических стратегий шансы на успех в нормализации уровня витамина D у детей практически минимальны.

Диссертационная работа Лошковой Елены Владимировны соответствует современным направлениям научных исследований в педиатрии и её актуальность не вызывает сомнений, так как решает актуальную проблему оценки клинических эффектов цитокинов и 25(OH)D, особенностей генетического контроля при заболеваниях с различным типом воспаления в детском возрасте.

Научная новизна исследования

Лошковой Е.В. впервые применен подход формирования моделей воспаления (аутоиммунной, микробной, метаболической, аллергической и лимфопролиферативной), что позволило выявить особенности цитокинового профиля и генетического контроля воспаления. 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 β , TNF- α)) неблагоприятного течения хронических воспалительных заболеваний в детском возрасте с формированием общих осложнений (нарушение функции почек, артериальная гипертензия, грамотрицательная бактериальная инфекция). Предложены новые подходы к диагностике и прогнозированию неблагоприятного течения воспалительных заболеваний.

По результатам ретро- и проспективных исследований на большом клиническом материале (на примере отдельных заболеваний, 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 заболеваний и факторы риска неблагоприятных исходов хронических заболеваний.

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. Установлено низкое содержание 25(OH)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. Выделены группы риска по недостаточности и дефициту витамина D: церебральный паралич (100,0%), воспалительные заболевания кишечника (96,6%), дети, имеющие в анамнезе патологию перинатального периода (95,3%), новообразования (95,1%), хроническая болезнь почек (93,5%), ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) (87,9%), сахарный диабет 1 типа (70,8%), недоношенные дети (84,0%).

Впервые в многоцентровом исследовании изучена обеспеченность витамином D при МВ, БА, 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.

Практическая значимость исследования

Предложенные автором иммунологические (IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α) и молекулярно-генетические предикторы (ТТ гена *IL1B* C(+3953)Т, А2А2 гена *IL1RN* VNTR, GG гена *TNFA**G-308А) позволяют шире использовать иммунологические и генетические методы диагностики в педиатрической практике.

При оказании медицинской помощи детям с тяжелым течением хронических воспалительных заболеваний следует учитывать, что выраженная провоспалительная модуляция иммунного ответа характерна для носителей генотипов: ТТ гена *IL1B* C(+3953)Т, А2А2 гена *IL1RN* VNTR, GG гена *TNFA**G-308А, что определяет прогноз и формирование осложнений (нарушение функции почек, артериальная гипертензия, граммотрицательная бактериальная инфекция).

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.

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, имеющие в анамнезе патологию перинатального периода, онкологические заболевания, хроническая болезнь почек, ЮИА, сахарный диабет 1 типа, недоношенные дети.

Автором дана комплексная оценка влияния экзогенных и эндогенных, в том числе, генетических факторов на уровень кальцидиола при МВ, БА и ЮИА, разработаны и внедрены прогностические предикторы гиповитаминоза D. Предложены и обоснованы алгоритмы персонификации назначения витамина D при данных заболеваниях.

Пациентам с МВ, БА и ЮИА, имеющим снижение уровня 25(OH)D, неудовлетворительный ответ на саплементацию витамином D, показано определение: генотипа TT полиморфного варианта c.1206T>C(A>G) TaqI, и генотипа AA полиморфизма BsmII (c.1174+283G>A) гена *VDR*, а для МВ – дополнительно генотипа TT полиморфизма c.152T>C FokI гена *VDR* для персонализированной коррекции профилактической и лечебной дозы холекальциферола.

Данные клинических наблюдений на протяжении более 10 лет с подробной характеристикой заболеваний по клинической симптоматике, формам, степени тяжести, структуре осложнений и синтропных заболеваний могут быть основой при планировании мероприятий по оказанию медицинской помощи больным с изучаемыми нозологиями.

Созданная система прогнозирования течения хронических воспалительных заболеваний в педиатрии и алгоритмы саплементации витамином D могут быть рекомендованы к внедрению в реальную клиническую практику, в общую профессиональную образовательную программу высшего образования – программу подготовки врачей в ординатуре и аспирантуре по специальности «Педиатрия», а также детских врачей по 6 специальностям в рамках непрерывного дополнительного профессионального образования.

В связи с этим, предложенные автором рекомендации по осуществлению таргетной профилактики холекальциферолом при отдельных заболеваниях, имеют важное практическое значение.

Рекомендации по использованию результатов и выводов исследования

При оказании специализированной медицинской помощи детям с СД 1 типа, целиакией, ХАИТ, МВ, ХП, ОЖ с метаболическим синдромом, рекомендовано определение вариантов генов *IL1B* C(+3953)T, *IL1RN**VNTR, *TNFA**G-308A для уточнения прогноза неблагоприятных исходов (формирование нарушений функции почек, артериальной гипертензии, грамотрицательной 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, BsmII (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.

Разработаны алгоритмы проведения скрининга и профилактики гиповитаминоза D среди практически здоровых детей и детей с муковисцидозом, бронхиальной астмой и ювенильным идиопатическим артритом.

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. 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. Результаты проведенного исследования представлены в материалах двух монографий и клинических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения РФ.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы

В диссертации Лошковой Е.В. четко сформулирована цель исследования, которая соответствует заявленной тематике работы, посвященной определению клинических эффектов цитокинов и 25(OH)D и их генетической регуляции на примере различных моделей воспаления у детей для разработки и совершенствования существующих профилактических и терапевтических подходов. В соответствии с этим поставлены пять задач исследования, которые позволяют достигнуть поставленной цели.

Достоверность полученных результатов определяется большим объемом и корректным формированием выборки (1169 пациентов на первом этапе работы и 4980 генетических и 4936 иммунологических исследования и 1501 пациент на втором этапе исследования в общей когорте детей, а также 926 детей, включенных в многоцентровое исследование по обеспеченности витамином D), использованием принципов и методов доказательной медицины, адекватностью статистических методов исследования.

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.

Автором сформулированы обоснованные выводы и предложены практические рекомендации, которые аргументированы и логически вытекают из результатов исследования. Обоснованные автором положения имеют важное значение для детализации особенностей цитокинового воспаления и таргетной коррекции низкой обеспеченности витамином D как среди здоровых детей, так и детей с хроническими заболеваниями.

Материалы диссертации изложены на научно-практических конференциях регионального, всероссийского и международного уровней.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Исследование, выполненное Лошковой Е.В., является оригинальным 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 ходе выполнения исследования автором 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 β , TNF- α)) неблагоприятного течения хронических воспалительных заболеваний в детском возрасте с формированием общих осложнений (нарушение функции почек, артериальная гипертензия, граммотрицательная бактериальная инфекция).

Автором представлена комплексная оценка эпигенетических факторов на обеспеченность витамином D здоровых детей и детей с хроническими воспалительными заболеваниями. Новым в исследовании Лошковой Е.В. 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(OH)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(OH)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%).

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 логично вытекают из результатов исследования в соответствии с поставленными задачами. 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».

Новизна результатов исследования, проведенного Лошковой Е.В., основных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Диссертационная работа Лошковой Е.В. с её основными положениями и выводами рекомендуется к использованию в учебном процессе в дополнительных профессиональных программах профессиональной переподготовки и повышения квалификации врачей, в рамках аккредитации специалистов по специальности педиатрия, а также в программах специалитета, ординатуры и аспирантуры.

Оценка структуры и содержания диссертации

Научно-квалификационная работа Лошковой Е.В. является завершённым исследованием и оформлена в соответствии с ГОСТом Р 7.0.11-2011. Диссертация включает введение, семь глав (обзор литературы, описание материала и методов исследования, 4-х глав результатов собственных исследований и главы обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 589 источников, из них 54 отечественных и 535 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 175 таблицами и 49 рисунками.

В обзоре литературы автором представлены данные о современном состоянии изучаемой проблемы. Глава «Материалы и методы исследования» включает описание используемых методов, объема выборки и подробную характеристику методов статистической обработки.

Материал диссертационной работы анализируется последовательно в соответствии с поставленной целью и задачами, в 3 главе автор дает характеристику продукции цитокинов при отдельных заболеваниях, моделях воспаления и одноклеточных осложнениях. Четвертая глава описывает генетическую регуляцию продукции цитокинов при различных заболеваниях, их осложнениях и моделях воспаления. В 5 главе автор дает характеристику обеспеченности витамином D в большой выборке детей (1501 человек общей когорты и 926 детей 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.

Выводы сформулированы четко, логично и соответствуют поставленной цели и задачам. Рекомендации для практического здравоохранения являются четко сформулированными и логично вытекают из полученных результатов исследования.

Результаты исследования освещены в 38 публикациях, в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, из них 24 статьи, индексируемых в базе данных Scopus, а также 15 тезисов. Результаты исследования Лошковой Е.В. представлены в материалах двух монографий и методических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения РФ.

Автореферат отражает содержание и основные диссертационной работы. По результатам проведенного анализа диссертационной работы и автореферата принципиальных замечаний к их содержанию и оформлению нет. Структура и оформление диссертации и автореферата соответствует требованиям ГОСТа.

В данном исследовании автором решена новая научная проблема персонализированного наблюдения, диагностики и предложены методы коррекции низкой обеспеченности витамином D с учетом полного спектра эндогенных и экзогенных факторов.

Вопросы для дискуссии:

1. При каких хронических заболеваниях у детей необходимо проводить определение полиморфизмов гена VDR?
2. Какие профилактические стратегии хронических воспалительных заболеваний известны? В чем заключается отличие предложенной Вами программы для оптимизации их профилактики?
3. Для разработки алгоритма профилактики гиповитаминоза D Вами были выбраны пациенты с бронхиальной астмой, муковисцидозом и ювенильным идиопатическим артритом? Почему именно эти группы пациентов Вы обследовали?

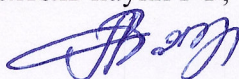
Заключение

Учитывая актуальность темы, высокий методический уровень решения поставленных задач, новизну, теоретическую и практическую значимость результатов исследования, считаю, что диссертация Лошковой Елены Владимировны на тему «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, обозначившей теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной научной проблемы по установлению клинических эффектов цитокинов, 25(OH)D и генов модификаторов иммунного ответа на примере различных моделей воспаления в детском возрасте и разработке новых профилактических подходов, что имеет существенное значение для педиатрии. Работа полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (научная специальность 3.1.21. Педиатрия), профессор, заведующий кафедрой факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Заслуженный деятель науки РФ, Заслуженный врач РФ

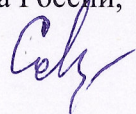


Вялкова Альбина Александровна

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 460014, Российская Федерация, Оренбургская область, город Оренбург городской округ, город Оренбург, улица Советская, здание №6, (3532) 50-06-06 (доб.601); факс: 50-06-20, office@orgma.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора А.А. Вялковой заверяю:
Ученый секретарь ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России,
доктор биологических наук, профессор



Соловых Галина Николаевна

10.09.2024г.

Подписи д.м.н., проф. А.А. Вялковой и д.б.н., проф. Г.Н. Соловых заверяю:

