

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)
Научно-практический центр «Фтизиатрия»**

677015, г. Якутск, ул. Петра Алексеева, 93, телефоны: приемная (4112)390330, факс: 475080,
адрес электронной почты: ftiziatria-2010@mail.ru
ОКПО 34164256, ОГРН 1021401066114, ИНН 1435071658, КПП 143501001

**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
на диссертацию Звонковой Светланы Геннадьевны
«ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЁЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ С
РАЗЛИЧНЫМИ ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности 14.01.16 – фтизиатрия**

Несмотря на снижение общей заболеваемости туберкулёзом, заболеваемость туберкулезом детей остается актуальной проблемой. Исследования взаимосвязи генетических показателей и восприимчивости к туберкулезу, особенностей течения туберкулезного процесса в зависимости от генетических факторов являются перспективными и позволят совершенствовать лечебные и профилактические мероприятия при туберкулезной инфекции. Необходимость дифференцированного персонифицированного подхода к лечебным мероприятиям определяют актуальность работы.

Диссертационная работа Звонковой С.Г. написана в традиционном стиле: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, заключение, выводы и практические рекомендации. Изложена на 160 страницах, включает 18 рисунков и 51 таблицу. Список литературы содержит 229 источников, в том числе 47- иностранных.

Цель исследования: оценить влияние генетических факторов – соматотипа и генов *CD209* –336 A/G (DC-SIGN), *CCL2* –2518A/G (MCP-1) и *INFγ* +874A/T – на восприимчивость к туберкулёзу и течение туберкулёзного процесса у детей для разработки индивидуальных подходов к профилактике и лечению данного заболевания.

Задачи исследования соответствуют цели: проанализировать течение туберкулёза и эффективность лечения у больных туберкулёзом детей в современных условиях, определить соматотип у здоровых, инфицированных и больных туберкулёзом детей и оценить влияние соматотипа на восприимчивость и течение туберкулёзной инфекции у детей в условиях неблагоприятной эпидемиологической ситуации, определить полиморфизм генов *CD209* –336 A/G DC-SIGN (*CD 209* рецептор), *CCL2* –2518A/G (MCP-1 моноцитарного хемоаттрактивного белка 1 типа), *INFγ* +874A/T (интерферона-γ) у здоровых, инфицированных и больных туберкулёзом детей, изучить влияние полиморфизма генов *CD209* –336 A/G (DC-SIGN), *CCL2* –2518A/G (MCP-1) и *INFγ* +874A/T на восприимчивость к туберкулёзу и течение заболевания у детей.

Научная новизна результатов исследования определена актуальностью изучения генетических механизмов, на основании которых можно разработать эффективные подходы к диагностике и лечению туберкулёза. Автором впервые установлена зависимость клинического течения туберкулёза от определенных аллелей изучаемых генов: положительная клинико-рентгенологическая динамика на ранних сроках лечения ассоциируется с наличием аллеля –336A *CD209* (DC-SIGN) гена; склонность к хроническому течению туберкулёза – с наличием аллеля –2518A *CCL2* (MCP-1) гена. Впервые определена связь полиморфизма генов *CD209* (DC-SIGN) и гена *INFγ* с характеристикой показателей периферической крови в процессе лечения туберкулеза.

Практическая значимость работы заключается в возможности выявления влияния полиморфизма вышеперечисленных генов на характер клинического течения туберкулёза, что даёт возможность индивидуального подхода к лечению туберкулёза у детей и прогнозирования

течения заболевания, проведения персонифицированного лечения туберкулёза, подбора оптимальных сроков интенсивной фазы химиотерапии (ХТ) и стационарного лечения. Для определения оптимальных сроков интенсивной фазы лечения основного курса химиотерапии, наряду с ранее используемыми клинико-рентгенологическими показателями, предложено учитывать полиморфизм CD209 –336 A/G (DC-SIGN) гена, а наличие AA генотипа CCL2 –2518A/G (MCP1) гена у детей необходимо рассматривать как фактор риска хронизации туберкулёзного процесса.

При обработке и анализе материала для решения каждой задачи исследования автором использованы разнообразные методы статистической обработки с помощью пакета программ биостатистика (BIOSTAT) и Statistica 6.0. Распределение соматотипов между группами сравнивали с использованием критерия χ^2 и t-критерия Стьюдента. Равновесие генотипов по Харди-Вайнбергу между сравниваемыми группами вычисляли с использованием Hardy-Weinberg Equilibrium Calculator (ХВ калькулятор). Статистический анализ ассоциации полиморфизма генов выполнен с использованием метода χ^2 в программе BIOSTAT. Анализ изменения в динамике гематологических показателей (общего числа лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, СОЭ) выполнен с использованием непараметрического критерия Вилкоксона в программе Statistica 6.0. Используемые методики и объём клинических наблюдений не вызывают сомнения в достоверности результатов и обоснованности научных положений и выводов. Методология выполнения работы соответствует современным требованиям, решение каждой задачи основано на анализе репрезентативной выборки и адекватных методах исследования, которые позволяют сделать соответствующие выводы.

Положения, выносимые на защиту, вытекают из содержания исследования и адекватны поставленной цели и задачам исследования.

Значительный научный и практический интерес представляют результаты собственных наблюдений автора.

Характеристика туберкулеза у детей в условиях напряженной эпидемиологической ситуации характеризуется значительным удельным весом осложненных и генерализованных клинических форм. У 75,0 % больных динамика туберкулёзного процесса замедлена на фоне противотуберкулёзной терапии. В результате основного курса химиотерапии сформировались необратимые изменений в лёгких в виде единичных, мелких кальцинатов у 39,0 % детей и множественных, крупных кальцинатов у 20,0 % детей.

Изучено распределение однонуклеотидного полиморфизма (SNP) трёх локусов: –336A/G промотора гена DC-SIGN, +874A/T гена INF γ , –2518A/G промотора гена MCP-1 у больных туберкулёзом детей. Установлено, что среди больных туберкулёзом детей, получивших в интенсивной фазе лечения 60 доз, достоверное преобладал аллель –336A DC-SIGN гена за счёт числа AA гомозигот по сравнению с детьми, получившими в интенсивной фазе 120 доз ($p < 0,05$). Для определения оптимальных сроков интенсивной фазы лечения основного курса химиотерапии, наряду с ранее используемыми клинико-рентгенологическими показателями, автор предлагает учитывать полиморфизм CD209 –336 A/G (DC-SIGN) гена.

В диссертационном исследовании показано, что здоровые, инфицированные и больные туберкулёзом дети не различались по генетическому полиморфизму исследуемых генов: CD209 –336 A/G DC-SIGN (CD 209 рецептор), CCL2 –2518A/G (MCP-1 моноцитарного хемоаттрактивного белка 1 типа), INF γ +874A/T (интерферона- γ).

Выявлено достоверное преобладание аллеля –2518A гена MCP-1 у больных детей с хроническим течением туберкулёза за счёт числа детей с гомозиготным вариантом AA –2518A/G промотора гена MCP-1, в связи с чем предложено наличие AA генотипа CCL2 –2518A/G (MCP1) гена у детей рассматривать как фактор риска хронизации туберкулёзного процесса. Диссертант рекомендует обязательное стационарное лечение противотуберкулёзными препаратами, учёта сведений о спектре лекарственной чувствительности у больного в очаге, если ребёнок заболел из контакта, а при отсутствии положительной динамики через 2 месяца возможна коррекция лечения у пациентов указанной группы.

В исследовании выявлено, что среди больных туберкулёзом достоверно чаще встречались дети с астеноидным и астеноидно-торакальным соматотипами, что указывает на предрасположенность этих конституциональных типов к туберкулёзу.

Влияние генетических факторов на гематологические показатели выражается в частности в том, что у детей с преобладанием аллели $-336A$ DC-SIGN гена за счёт гомозиготных (AA) носителей абсолютное количество лимфоцитов выше среднего к концу лечения.

Аллель $+874A$ гена $INF\gamma$ преобладает у детей с содержанием лимфоцитов выше среднего в начале лечения. Аллель $+874A$ гена $INF\gamma$ преобладает у детей с содержанием моноцитов выше среднего через 4 месяца от начала лечения. Вышеперечисленные ассоциации объяснимы с точки зрения функциональной значимости генов при туберкулёзной инфекции и их влияния на иммунный ответ.

Заключение в полной мере отражает суть работы, содержит обсуждение полученных результатов исследования. Выводы, научные положения, достоверность, научная и практическая новизна полученных результатов обоснованы.

Личный вклад автора заключается в планировании, организации и проведении исследования, формировании цели и задач, определении объема и методов исследований, создании электронных баз данных, проведении статистической обработки.

Рекомендации диссертантом по использованию результатов и выводов диссертационной работы будут иметь большое практическое значение для дифференцированного персонализированного подхода к лечебным мероприятиям:

- принадлежность к астеноидному и астеноидно-торакальному типу конституции расценивать как дополнительный фактор риска при отборе детей для химиопрофилактики по результатам туберкулинодиагностики и Диаскинтеста. При отрицательном результате Диаскинтеста у детей из VI группы диспансерного учета проводить химиопрофилактику одним противотуберкулезным препаратом.

- показанием для исследования генотипической принадлежности детей по полиморфизму генов $CD209$ DC-SIGN ($CD 209$ рецептор), $CCL1$ (MCP-1 моноцитарного хемоаттрактивного белка 1 типа), $INF\gamma$ (интерферона – γ) является установление диагноза туберкулёза для планирования лечебных мероприятий.

- детям с гомозиготным вариантом (AA) DC-SIGN гена возможно планировать интенсивную фазу основного курса лечения в 60 доз, тогда как у детей с AA генотипом MCP-1 гена интенсивная фаза основного курса лечения должна быть не менее 90 доз.

В целом диссертация С. Г. Звонковой оценивается положительно, имеются следующие замечания и вопросы, не умаляющие значение диссертации:

- 1) Почему количество гематологических показателей в скобке?
- 2) Достаточно ли число детей в группах для проведения генетических исследований?
- 3) В списке сокращений и условных обозначений нет расшифровки аллелей, ПТАТ, ИФА, ПИЦП, СОЭ и др.

Хотелось бы также услышать мнение автора по вопросу:

- 1) Почему определяли визуально результаты определения противотуберкулезных антител методом иммуноферментного, а не с использованием ИФА анализатора (ридера). Как можно определить визуально высокий титр ПТАТ?

Результаты исследования представлены в виде 11 печатных работ, в том числе 2 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных положений диссертаций на соискание учёных степеней.

Автореферат соответствует тексту диссертации, содержит основные положения, выводы и практические рекомендации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

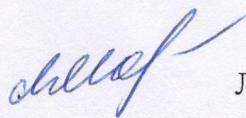
Диссертация Звонковой Светланы Геннадьевны на тему: «Особенности туберкулёзной инфекции у детей с различными генетическими показателями», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.16 – фтизиатрия, является научно-квалификационной работой в которой, на основании выполненных автором

исследований, решена научная задача – выявление влияния полиморфизма вышеперечисленных генов на характер клинического течения туберкулёза, что даёт возможность индивидуального подхода к лечению туберкулёза у детей и прогнозировать течение заболевания, предложено учитывать полиморфизм CD209 –336 A/G (DC-SIGN) гена и CCL2 –2518A/G (MCP1) гена для определения оптимальных сроков интенсивной фазы лечения основного курса химиотерапии, что имеет существенное значение для фтизиатрии.

Работа Звонковой Светланы Геннадьевны по актуальности, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней (Постановление правительства РФ от 24.09.2013 года № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.16. – фтизиатрия.

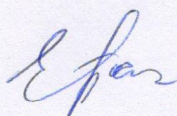
Отзыв обсужден на заседании Ученого совета Государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) Научно-практический центр «Фтизиатрия» «03»_февраля_2016 г., протокол №_1_.

Зав. иммунологической лаборатории
Государственного бюджетного учреждения
Республики Саха (Якутия)
Научно-практический центр «Фтизиатрия»
Доктор медицинских наук



Л.И. Мордовская

Подпись д.м.н. Мордовской Л.И.
подтверждаю
Ученый секретарь ГБУ РС (Я)
Научно-практический центр «Фтизиатрия»
к.м.н.
М.П.

Е.С. Павлова

Ведущая организация:
Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия)
Научно-практический центр «Фтизиатрия»
677015 г. Якутск, ул. П. Алексеева, 93
Тлф.: 8-4112-390330/факс 8-4112-475080