

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию Звонковой Светланы Геннадьевны
«Особенности туберкулезной инфекции у детей
с различными генетическими показателями»,
представленную на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности 14.01.16 – фтизиатрия

Актуальность работы определена оценкой влияния генетических факторов – соматотипа, генов CD209 –336A/G (DC-SIGN), CCL2 –2518A/G (MCP-1) и INF γ +874A/T – на восприимчивость к туберкулёзу и течение туберкулёзного процесса у детей для разработки индивидуальных подходов к профилактике и лечению данного заболевания.

Для решения задач исследования были проанализированы течение туберкулёза и эффективность лечения у детей в современных условиях, определён соматотип у здоровых, инфицированных и больных туберкулёзом детей и оценено влияние соматотипа на восприимчивость и течение туберкулёзной инфекции у детей в условиях неблагоприятной эпидемиологической ситуации,. Определён полиморфизм генов CD209 –336 A/G DC-SIGN (CD 209 рецептор), CCL2 –2518A/G (MCP-1 моноцитарного хемоатрактивного белка 1 типа), INF γ +874A/T (интерферона- γ) у здоровых, инфицированных и больных туберкулёзом детей, изучено влияние полиморфизма генов CD209 –336 A/G (DC-SIGN), CCL2 – 2518A/G (MCP-1) и INF γ +874A/T на восприимчивость к туберкулёзу и течение заболевания у детей.

Дизайн исследования – рассмотрение групп детей (здоровых, инфицированных и больных) с последующим анализом и статистической обработкой, несомненно, является достоинством этой работы. Надо отдать должное автору, он очень тщательно, скрупулёзно отнёсся к анализу полученных данных, статистической его обработке.

Несомненна научная новизна полученных результатов исследования, представленных в диссертации. 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 INF γ с характеристикой показателей периферической крови в процессе лечения туберкулеза.

Полученные результаты имеют как практическое, так и фундаментальное значение. Практическая значимость работы заключается в выявлении влияния полиморфизма вышеперечисленных генов на характер клинического течения туберкулёза, что даёт возможность индивидуального подхода к лечению туберкулёза у детей и прогнозирования течения заболевания, проводить персонифицированное лечение туберкулёза, подбирать оптимальные сроки 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, что требует обязательного стационарного лечения противотуберкулезными 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.

Предложено формировать группы риска по туберкулёзу с учётом типа конституции. В группу риска по туберкулёзу могут быть включены инфицированные туберкулёзом дети астеноидного и астеноидно-торакального типов конституции, что требует проведения им индивидуальных профилактических мероприятий для предотвращения развития туберкулёза.

Диссертация построена по классической схеме и изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и

списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 51 таблицы и 18 рисунков. Указатель литературы представлен 229 источниками, из которых 47 – зарубежных авторов.

Во введении автор чётко очерчивает проблему, определяет цель и задачи исследования. Материалы и методы описаны достаточно подробно, чтобы можно было воспроизвести поставленные эксперименты. Автором использованы разнообразные методы статистической обработки с помощью пакета программ биостатистика (BIOSTAT) и Statistica 6.0. Используемые методики и объем клинических наблюдений не вызывают сомнения в достоверности результатов и обоснованности научных положений и выводов.

Значительный научный и практический интерес представляют результаты собственных наблюдений автора. 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 в зависимости от таких особенностей клинического течения туберкулёза как распространенность и наличие осложнений, рентгенологическая динамика с формированием кальцинатов и без кальцинатов.

Автором установлено, что среди больных туберкулёзом детей, получивших в интенсивной фазе лечения 60 доз, выявлено достоверное преобладание аллеля – 336A DC-SIGN гена за счёт числа AA гомозигот в сравнении с детьми, получившими в интенсивной фазе 120 доз. Предложено для определения оптимальных сроков интенсивной фазы лечения основного курса химиотерапии, наряду с ранее используемыми клинико-рентгенологическими показателями, учитывать полиморфизм CD209 –336 A/G (DC-SIGN) гена.

В диссертационном исследовании показано, что здоровые, инфицированные и больные туберкулезом дети не различались по генетическому полиморфизму 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).

Клиническая структура туберкулеза у детей в условиях напряженной эпидемиологической ситуации характеризуется значительным удельным весом

осложненных (35,0 %) и генерализованных (5 %) форм. У 75,0 % больных отмечается замедленная динамика туберкулезного процесса на фоне противотуберкулезной терапии. Исходами основного курса химиотерапии является формирование необратимых изменений в лёгких в виде единичных, мелких (39,0 % детей) или множественных, крупных кальцинатов (20,0 % детей).

Выявлено достоверное преобладание аллеля –2518А гена MCP-1 у больных детей с хроническим течением туберкулёза за счёт числа детей с гомозиготным вариантом AA – 2518А/А промотора гена MCP-1, предложено наличие AA генотипа CCL2 –2518А/А (MCP1) гена у детей рассматривать как фактор риска хронизации туберкулезного процесса, что требует обязательного стационарного лечения противотуберкулезными 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.

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

Установлено, что у детей с абсолютным количеством лимфоцитов выше среднего к концу лечения достоверно преобладает аллель –336А DC-SIGN гена за счёт гомозиготных (AA) носителей, что ещё раз указывает на его благоприятное влияние на течение заболевания ($p < 0,05$).

Аллель +874А гена INF γ преобладает у детей с содержанием лимфоцитов выше среднего в начале лечения. Аллель +874А гена INF γ преобладает у детей с содержанием моноцитов выше среднего через 4 месяца от начала лечения ($p < 0,05$). Вышеперечисленные ассоциации объяснимы с точки зрения функциональной значимости генов при туберкулезной 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.

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

1. К сожалению, автор во многих местах не указывает относительные и/или абсолютные показатели (количество моноцитов, лимфоцитов и т.д.).

2. Работа содержит незначительное количество стилистических неточностей. В плане оформления рисунков и структуры текста есть некоторые замечания: рисунок 10, 16, 17, 18 следовало бы перерисовать, рисунки 11, 12, 13 и рисунки 16 и 17 следуют друг за другом без текста между ними (обсуждения полученных результатов). На графиках динамики изменения лейкоцитов (рис. 6 - 9) обозначены два периода Var 1 и Var 2, «исходные показатели» и «к 4-му месяцу лечения», при этом в таблицах приведены три периода (табл. 16 и табл. 17) - начало лечения, через 4 месяца лечения, в конце лечения. Почему?

3. Литературный обзор диссертации улучшили бы и облегчили восприятие информации графики динамики заболеваемости, смертности в зависимости от года. Подглава «Генетические исследования предрасположенности к туберкулёзу» требует структуризации, автором перечисляются различные работы, но вместе они никак не группируются, не систематизируются.

4. Были ли генотипированы изоляты *M.tuberculosis* на предмет принадлежности к определенному генетическому семейству, например к «пекинскому».

5. Не понятно, почему автор объединяет в одну главу 4 конституциональный тип и генотип, логично было бы выделить анализ генотипов в отдельную главу.

6. В положениях, выносимых на защиту, указано, что «...клиническая структура туберкулеза у детей....характеризуется значительным удельным весом осложненных (35,0 %) и генерализованных (5 %) форм», хотя, превалирует все же неосложнённое течение (у 65%) и локальная форма заболевания (у 79%, туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов).

7. В практических рекомендациях Вы ссылаетесь на результаты «Диаскинтеста». Были ли дети с диагнозом туберкулез, поставленным на основании «Диаскинтеста», насколько он коррелировал с другими методами выявления?

Хотелось бы также услышать мнение автора по следующим вопросам:

1. В литературном обзоре автор пишет про множество полиморфизмов, ассоциированных не только с туберкулёзом, но, вообще, с инфекционными заболеваниями. Почему выбрано именно это сочетание генов и их полиморфизмов?

2. Ранее в Иркутской области был исследован полиморфизм генов DC-SIGN –336A/G, MCP1 –2518A/G и INF γ +874A/T у 208 больных лёгочным туберкулёзом и 177 здоровых жителей Иркутской области, при этом не было обнаружено достоверных статистических различий между когортой больных и здоровых людей по всем трём исследуемым генам. С чем связано нахождение статистических различий между когортами в Вашей выборке? Как Ваши результаты генотипирования ДНК детей соотносятся с ранее опубликованными результатами?

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы: внедрить предложенную схему формирования групп риска для диагностики и планирования лечения в детские туберкулезные больницы.

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 завершённой 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.

Диссертация 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.

Официальный оппонент:
Старший научный сотрудник
ФГБУ «ННИИТ» Минздрава России,
кандидат биологических наук



М.А. Дымова

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8,
телефон: (383) 363-51-71
адрес электронной почты: may.a.rot@gmail.com.

Подпись М.А.Дымовой заверяю,
Ученый секретарь ФГБУ «ННИИТ» Минздрава России,
С.н.с., к.б.н.
25 февраля 2016 года

Н.Н.Курунова