

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Татьяны Владимировны Мякишевой на диссертацию Степановой Натальи Александровны на тему: «Персонализированные подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулеза органов дыхания», представленную к официальной защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность. За последние годы отмечается прорыв в области научных исследований во фтизиатрии, касающихся изменения подходов к выявлению, диагностике и лечению туберкулеза. Многие лаборатории противотуберкулезных учреждений оснащены современным оборудованием, позволяющим в кратчайшие сроки верифицировать диагноз. Это позволило провести множество исследований, изучающих генетические особенности при активном туберкулезе. Вопросы различных проявлений туберкулезных инфекции, разнообразие особенностей, как течения, так и ответной реакции на лечение можно решить с помощью различных технологических возможностей.

Диссертационная работа Степановой Натальи Александровны посвящена изучению полиморфных вариантов генов биотрансформации (*NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*), гена иммунного ответа HLA – DRB 1 в ассоциации с концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов и их влияния на течение и эффективность лечения впервые выявленного туберкулеза легких, что делает работу современной и актуальной.

Целью исследования явилось выявление клинико-генетических особенностей туберкулеза легких на основании изучения генетического полиморфизма генов биотрансформации и иммунного ответа для совершенствования тактики лечения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Работа выполнена на высоком методическом уровне, что обеспечивает достаточную степень

достоверности полученных результатов. Для осуществления поставленной цели автором сформулированы 8 задач. Исследование состояло из 5 этапов. На первом этапе проведен анализ результатов фундаментальных и поисковых исследований отечественных и зарубежных ученых и составлен аналитический литературный обзор. На втором этапе осуществлено генотипирование: изучение полиморфизма генов *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*. На третьем этапе определены цели, задачи, практическая значимость исследования. На следующем этапе выявлены ассоциативные связи полиморфизма *NAT2* и частоты нежелательных побочных реакций противотуберкулезных препаратов; полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* и степени выраженности клинической симптоматики туберкулезного процесса; *HLA – DRB 1 HLA-DQA1, HLA-DQB1* с концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1b, ИЛ-2, ФНО-α, γ-ИНФ и ИЛ-10) с особенностями течения заболевания. На заключительном этапе разработаны персонализированные клиничко-генетические подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулеза органов дыхания.

Положения, выносимые на защиту, обоснованы. Выводы и практические рекомендации логически взаимосвязаны, аргументированы и соответствуют цели и задачам исследования. Основные результаты исследования опубликованы в ВАК рецензируемых изданиях и апробированы на конференциях.

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. Достоверность полученных результатов определяется достаточным объемом выборки и корректным применением современного комплекса наукоемких методов исследования: эпидемиологического, клинического, молекулярно-генетического, аналитического и статистического. Используются общепринятые методы описательной и сравнительной статистики, хи квадрат, однофакторный дисперсионный анализ. Между отдельными зависимыми величинами вычисляли коэффициенты парной корреляции (r). Связь считали

значительной при $r = 0,5 - 0,7$ и сильной при $r = 0,8 - 0,9$. Выявленные закономерности и связи изучаемых параметров между группами и признаками были значимыми при вероятности прогноза $P = 95\%$ ($p < 0,05$).

Иллюстративный материал содержит 83 таблицы и 49 рисунков, 16 клинических примеров, отражающих полученные результаты.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, заключается в том, что выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *NAT2* с частотой нежелательных побочных реакций на ПТП; полиморфизма генов *GSTM1* и *GSTT1* со степенью выраженности клинической симптоматики туберкулезного процесса; генов иммунного ответа локусов *HLA – DRB 1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и концентрации про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО- α , γ -ИНФ и ИЛ-10) с особенностями течения заболевания. Впервые проведена оценка эффективности и безопасности специфической химиотерапии туберкулёза легких в зависимости от генетического полиморфизма генов биотрансформации и иммунного ответа у пациентов Астраханского региона.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. Значимость полученных Степановой Натальей Александровной результатов заключается в установлении особенностей клинического течения туберкулёза лёгких в зависимости от генетического полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *DRB1*. Исследована концентрация цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО- α , γ -ИНФ и ИЛ-10) у больных туберкулёзом легких в зависимости от генетического полиморфизма генов иммунного ответа *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*. Это позволило разработать клинико-генетические подходы к фармакотерапии, и персонализировать тактику лечения туберкулеза органов дыхания, повышая ее эффективность и безопасность.

Результаты диссертационного исследования апробированы и внедрены в практику амбулаторных отделений и стационаров ГБУЗ АО «Областной клинический противотуберкулёзный диспансер», в частности «Способ

прогнозирования риска развития нежелательных побочных реакций при лечении туберкулёза легких» (Патент РФ № 2591615), «Способ оценки степени выраженности интоксикационного синдрома». Материалы исследования используются в учебном процессе кафедр ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, 2 глав с результатами собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Всего 317 страниц текста.

Обзор литературы состоит из пяти разделов, включает 573 источника, из них 380 отечественных и 193 зарубежных авторов. Автор в обзоре представил эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в Российской Федерации и Астраханской области на современном этапе, влияние носительства полиморфных аллелей генов на формирование индивидуального ответа на противотуберкулезную терапию, описал генетический полиморфизм генов иммунного ответа системы *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*. Однако экстраполировать результаты приведенных исследований на Астраханский регион затруднительно, ввиду установленных ранее этнических и территориальных особенностей наследования полиморфных аллелей системы HLA, что диктует необходимость изучения генов предрасположенности системы HLA к туберкулезу у пациентов Астраханской области.

Диссертант взял за основу вытекающую из обзора идею контроля концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-10, ФНО, γ -ИНФ) для диагностики состояния иммунной системы, прогноза возможных осложнений и прогрессирующего течения туберкулеза. Изучение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в корреляции с генетическими особенностями пациентов могут открыть новые пути достижения поставленной цели данного исследования.

Во 2-й главе представлен дизайн исследования, методология формирования когорты, критерии включения и исключения из исследования. Для всех групп сравнения представлена клиническая характеристика. Методы исследования изложены объемно и доступно, отдельно описаны молекулярно-генетические методы для изучения выбранных соискателем полиморфизмов генов иммунного ответа *HLA – DRB 1 HLA-DQA1, HLA-DQB1* и второй фазы биотрансформации лекарственных средств (*NAT2, GSTM1, GSTT1*), так как на этом базируется новизна и актуальность работы.

Методики проведения статистической обработки данных соответствуют современным требованиям.

Глава 3 диссертации, отражающая результаты собственных наблюдений автора, посвящена исследованию распространенности полиморфных вариантов генов биотрансформации (*NAT2, GSTM1, GSTT1*) у больных туберкулезом легких, проживающих в Астраханской области. В ходе исследования полиморфизма гена *NAT2* сформировались следующие группы сравнения: I - гетерозиготы с преимущественно медленным метаболизмом, II группа - генотипы с нормальной скоростью ацетиллирования и III группа представлена быстрыми ацетилляторами. Было установлено, что среди жителей Астраханской области, страдающих туберкулезом, 111 человек (63,1%) являются носителями медленного метаболизма ацетилирования.

Изучая полиморфизм генов *GSTM1* и *GSTT1*, были сформированы четыре группы сравнения. В первую группу вошли пациенты, у которых синтез ферментов глутатион-S-трансферазы μ (*GSTM1*) и глутатион-S-трансферазы θ (*GSTT1*) осуществляется – 84 (47,7%) случая. Во вторую – пациенты, у которых фермент *GSTM1* не синтезируется, а синтез фермента *GSTT1* осуществляется – 61 (34,7%) больной. Третья группа была представлена пациентами, у которых фермент *GSTM1* синтезируется, а синтез фермента *GSTT1* не осуществляется – 19 (10,8%) человек. В четвертую вошли больные с «нулевым» генотипом по *GSTM1* и *GSTT1*, т.е. выработка данных ферментов не осуществляется – 12 (6,8%) пациентов. Установлено, что

наиболее значимым в диагностическом плане является полиморфизм гена *GSTM1*, который является неблагоприятным прогностическим признаком распространенных форм с деструкцией легочной ткани.

У 117 (66,5%) пациентов развились нежелательные побочные реакции (НПР) на фоне специфического лечения. В группе медленных ацетиляторов (I-я группа) лидирующими установлены НПР токсического характера – у 63 (53,8%) больных. НПР токсико-аллергического характера установлены у 32 пациентов, из которых 31 (96,9%) человек с генотипом *NAT2*, обеспечивающим медленное ацелирование. Токсические НПР в группе больных с генотипом *NAT2*, обеспечивающим среднюю (нормальную) скорость ацелирования, определены в единичных случаях. У больных с генотипом *NAT2*, обеспечивающим быструю скорость ацелирования, НПР токсического и токсико-аллергического характера установлены также в единичных случаях.

В последней части 3-й главы изучено клиническое течение туберкулеза легких в установленных ассоциативных связях генов иммунного ответа *HLA-DRB 1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* с концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО, γ -ИНФ и ИЛ-10). В прогностическом плане наиболее неблагоприятными являются носительства аллелей генов *04, *13, *14, *16 аллелями *HLA-DRB1*; с *0501 аллелем *HLA-DQA1* и *0201 аллелем *HLA-DQB1*.

В 4 главе диссертации автор решает шестую и седьмую поставленные им задачи путем анализа эффективности специфической химиотерапии туберкулеза органов дыхания в зависимости от генетического полиморфизма генов системы биотрансформации (*NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*) и генов иммунного ответа (*HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*), а также вариабельности цитокиновой активности. Для оценки эффективности специфической химиотерапии туберкулеза органов дыхания в зависимости от генетического полиморфизма генов системы биотрансформации (*NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*) пролечено 176 пациентов. Длительность клинических проявлений

интоксикационного и бронхолегочного синдромов на фоне комплексной терапии у пациентов, с полиморфными вариантами генов *GSTM1* и *GSTT1* была различной. Более выраженная клиническая симптоматика и более медленная регрессивная динамика касалась пациентов с делецией гена *GSTM1*.

Эффективность специфической химиотерапии туберкулеза органов дыхания у пациентов, имеющих в гене *HLA - DRB1* специфичности *01, *07, *08, *10, *15, в гене *HLA - DQA1* аллели *0102, *0201, *0301, в гене *HLA - DQB1* аллели *0401/02, *0602/08, оценена автором как самая высокая.

Эффективность специфической химиотерапии туберкулеза органов дыхания у пациентов с *04, *13, *14, *16 аллелями *HLA - DRB1*; с *0501 аллелем *HLA - DQA1* и *0201 аллелем *HLA - DQB1* в генотипе, оценена как низкая. Дисбаланс цитокинов в сторону провоспалительных, соответствующий данному полиморфизму генов, вероятно, обеспечивает, длительно сохраняющиеся, ярко выраженные клинические проявления туберкулеза легких и низкую эффективность терапии.

В последней части 4 главы представлены, разработанные автором персонализированные клинико-генетические подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии.

В обсуждении результатов нашли отражение все разделы диссертационного исследования, объединены наиболее важные данные, полученные автором в процессе научной работы. В современных условиях очевидна необходимость углубления знаний генетического полиморфизма генов системы биотрансформации и иммунного ответа, а также variability цитокиновой активности. Накопленные сегодня знания о генетическом полиморфизме системы HLA являются преимущественно обобщенными. Попытка автора внести новые данные в вопросы фтизиатрии о прогнозировании течения туберкулеза и переносимости специфической химиотерапии удалась.

Выводы и практические рекомендации соответствуют цели, задачам и вытекают из данных, полученных в результате научного исследования. Практические рекомендации сформулированы согласно полученным результатам, они апробированы и могут быть широко использованы в практической работе.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты исследования могут использоваться в учреждениях противотуберкулезной службы, которые оснащены амплификаторами для проведения генотипирования полиморфизма генов биотрансформации *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1* и генов иммунного ответа *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DQA1* для выявления заведомо неблагоприятных аллельных вариантов, что будет служить основанием для лечащего врача тщательно анализировать клиническую ситуацию и проводить коррекцию химиотерапии, в частности дозировку, сроки терапии и проведение профилактики побочных эффектов специфических лекарственных средств. Полученные автором данные могут использоваться в учебном процессе кафедр фтизиатрии до дипломного и постдипломного образования медицинских вузов в преподавании раздела «Лечение больных туберкулезом».

Личный вклад автора заключается в планировании, организации и проведении исследования, формулировании цели и реализации задач, определении методов исследований (в том числе и статистической обработки), проведении информационно-патентного поиска, создании электронной картотеки, написании диссертации, статей по теме исследования и методических рекомендаций.

Материалы диссертации достаточно широко апробированы, представлены на научных конференциях как российского, так и международного уровня. По материалам диссертации опубликовано 43 работы, в том числе 17 в научных журналах и изданиях, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией Министерства

образования и науки РФ, 7 статей входит в реферативную международную базу данных Scopus, Web of Science. Получено 2 Патента РФ на изобретение.

Автореферат диссертационной работы соответствует всем требованиям к его оформлению, а также содержанию и выводам диссертации.

Диссертационная работа соответствует плану НИР ГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России (№ 114070770022 гос. регистрации от 07. 07. 2014г.). Работа выполнена в рамках реализации гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых российских ученых докторов наук на выполнение научного исследования «Разработка алгоритмов персонализированного лечения и профилактики осложнений туберкулёза органов дыхания в Астраханском регионе». – МД – 6325.2015.7.

Работа выполнена на высоком современном научном и методическом уровне. Принципиальных замечаний по диссертационной работе Степановой Натальи Александровны нет.

Заключение.

Диссертация Степановой Натальи Александровны на тему: «Персонализированные подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулеза органов дыхания», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной, актуальной научной проблемы по разработке критериев прогнозирования течения и эффективности лечения туберкулеза легких на основании изучения полиморфизма генов биотрансформации и иммунного ответа для совершенствования тактики лечения, что имеет важное научное и практическое значение.

По актуальности, научной новизне, объему исследования работа Степановой Натальи Александровны на тему: «Персонализированные подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии

туберкулеза органов дыхания», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 года №842 (с изменениями в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016г. №335), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:
заведующий кафедрой фтизиопульмонологии
ФГБОУ ВО «Смоленский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук
(3.1.26. Фтизиатрия), доцент

 Татьяна Владимировна
Мякишева

Почтовый адрес: 214019, г. Смоленск,
ул. Крупской, д.28,
ФГБОУ ВО СГМУ МЗ РФ,
кафедра фтизиопульмонологии
телефон: +7(481) 227-18-09
e-mail: phtisiatr67@yandex.ru



Подпись официального оппонента
доктора медицинских наук, доцента
Мякишевой Татьяны Владимировны заверяю

Дата: 28.04.2022г.

