

ОТЗЫВ

официального оппонента Шовкун Людмилы Анатольевны на диссертацию Степановой Натальи Александровны «Персонализированные подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулёза органов дыхания», представленной к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность избранной темы

Несмотря на несомненные успехи в борьбе с туберкулезом в России, как и во всем мире, в структуре туберкулезного процесса произошли определенные сдвиги, существенно влияющие на эпидемическую ситуацию. Это связано с ежегодным ростом доли пациентов с множественной, в том числе, широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. В Российской Федерации с 2009 года отмечается благоприятная динамика основных показателей по туберкулезу: заболеваемость снизилась на 46,2%, смертность уменьшилась на 65,3%. Снижение показателей в различных федеральных округах России происходит неравномерно. Заболеваемость туберкулёзом в Российской Федерации в 2021 году составила 34,1 на 100000 населения, в Астраханской области – 49,8.

Однако, эффективность лечения туберкулеза остается низкой, несмотря на снижение заболеваемости и смертности. Среди причин низкой эффективности лечебных мероприятий, наряду с лекарственной устойчивостью, рядом социальных факторов, следует отметить частое появление нежелательных побочных реакций на противотуберкулёзные препараты. Появление нежелательных побочных реакций на ПТП заставляет врачей пересматривать схемы лечения, что нередко влияет на качество этиотропной терапии, удлиняет процесс медикаментозного лечения, способствует распространению туберкулеза и несет дополнительные экономические затраты, связанные с поиском новых, более безопасных и эффективных режимов

В последние годы, благодаря развитию молекулярной генетики, которая активна развивается и применяется в практическом здравоохранении, важной становится персонализированная медицина, основанная на принципах доказательности и позволяющая разработать алгоритмы индивидуального лечения больных с учетом генетической предрасположенности к формированию ответа на фармакотерапию. Однако, многие вопросы, касающиеся выявления предрасположенности к туберкулезу, адресные схемы к повышению безопасности и эффективности противотуберкулезной терапии, позволяющие улучшить переносимость специфического лечения, уменьшить количество НПР,

уменьшить сроки бактериовыделения и количество осложнений разработаны недостаточно. Индивидуальное лечение больных с учетом генетической предрасположенности к формированию ответа на фармакотерапию является персонализированным подходом к лечению, прогнозу заболевания, а в будущем и к профилактике туберкулеза. В связи с этим, диссертационное исследование Степановой Н.А. имеет важное значение для научного обоснования персонализированного лечения, актуальность и практическую значимость.

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования МЗ РФ «Астраханский государственный медицинский университет» по традиционному плану и состоит из введения, 4 глав, включающих литературный обзор, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и обсуждения результатов, выводов, заключения, практических рекомендаций и указателя используемой литературы.

Целью исследования явилось выявление клинико-генетических особенностей туберкулеза легких на основании изучения генетического полиморфизма генов биотрансформации и иммунного ответа для совершенствования тактики лечения. Для выполнения поставленной цели было сформулировано 8 задач, свидетельствующих о последовательности и комплексности проведенного исследования.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Все положения, выносимые на защиту, соответствуют специальностям: 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология. Обоснованность исследования подтверждается комплексным изучением проблемы с хорошим знанием литературы, посвященной данной теме, включающей и зарубежные данные. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием адекватных поставленной цели и задачам исследования современных научных методов медицинской статистики, тщательным анализом и интерпретацией полученных результатов. Полученные результаты логично аргументированы и представлены в виде выводов и практических рекомендаций. Работа выполнена на достаточном клиническом материале с использованием современных методов исследования и статистической обработки. В основу положены результаты статистически значимого числа наблюдений (346, из них полиморфизм генов биотрансформации (*NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*) изучался у 176 больных, у 64 пациентов проведено изучение полиморфизма генов иммунного ответа *HLA – DRB 1*, *HLA – DQB 1*, *HLA – DQA 1* и у 106 больных туберкулёзом органов дыхания изучалась концентрация про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО, γ -ИНФ и ИЛ-10) на разных

этапах специфической терапии). Диссертантом представлена четкая рандомизация наблюдаемых групп пациентов. При анализе данных использованы методы вариационной статистики с помощью программ «Microsoft Excel 2010» с расчетом средних значений (M), среднеквадратического отклонения (σ). Достоверность изменений между отдельными показателями, возникающими на этапах исследования, оценивали по критерию t-Стьюдента, однофакторного дисперсионного анализа. Между отдельными зависимыми величинами вычисляли коэффициенты парной корреляции (r). Об ассоциации разных генотипов (или их комбинаций) с заболеванием судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)). Для изучения репрезентативности групп исследования использовали уравнение Харди-Вайнберга. Это позволило автору получить статистически достоверные и клинически значимые результаты.

Автором сформулированы 9 положений, выносимых на защиту. Следует отметить тщательный анализ материала, что позволяет аргументировать научные положения работы, которые обоснованы и полностью раскрыты. Рекомендации логичны и последовательны, отражают цель и задачи исследования; проведен тщательный анализ и интерпретация большого объема полученных данных в контексте отечественного и мирового опыта.

Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленной цели и задачам, четко сформулированы, имеют важное научное и практическое значение. Практические рекомендации изложены конкретно и могут служить руководством в клинической практике врачей-фтизиатров. Следует отметить глубокую и всестороннюю разработку проблемы.

Таким образом, степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций следует считать высокой.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование Степановой Н.А. обладает несомненной научной новизной.

Впервые автором выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *NAT2* и частотой нежелательных побочных реакций на противотуберкулезные препараты, а также полиморфизмом генов *GSTM1* и *GSTT1* и степенью выраженности клинической симптоматики туберкулезного процесса.

Впервые получены новые данные: у больных туберкулезом легких, проживающих в Астраханском регионе обнаружена высокая частота встречаемости (69%) полиморфных вариантов генов биотрансформации, предопределяющих эффективность и безопасность специфической химиотерапии.

Впервые, на основании результатов, полученных автором в ходе генотипирования, установлено, что наиболее неблагоприятным маркером тяжелого течения туберкулеза органов дыхания является одновременная делеция генов *GSTM1*, *GSTT1*, что встречалось у 7% пациентов.

Впервые установлено, что характер индивидуальной переносимости противотуберкулезных препаратов необходимо изучать по фармакогенетическому тестированию, что позволяет иметь высокую эффективность лечения и удовлетворительную переносимость специфической терапии у пациентов с гомозиготным генотипами *GSTM1* и *GSTT1*.

Впервые было установлено, что при делеции одного или одновременно двух генов *GSTM1* и *GSTT1* и при носительстве медленного аллеля *NAT2* частота нежелательных побочных реакций достигает 80%.

Впервые разработаны и клинически апробированы подходы персонализированного лечения, позволяющие повысить эффективность терапии и уменьшить количество нежелательных побочных реакций на основе комплексного молекулярно-генетического, клинико-инструментального и лабораторного обследования пациентов, страдающих туберкулезом органов дыхания. Получены 2 патента РФ.

Значимость для науки и практики, полученных автором диссертации результатов

Диссертация Степановой Н.А. имеет большую научную и практическую значимость. В диссертационном исследовании изучены основные вопросы важной научной проблемы, которые связаны между собой внутренним единством, что подтверждается полученными результатами, наличием последовательной схемы исследований и актуальностью изучаемого вопроса; содержатся новые научные результаты, что свидетельствует о личном вкладе автора в науку.

Значимость для науки заключается в том, что выявленные в диссертационном исследовании результаты являются значительным вкладом в теоретическое понимание процессов предрасположенности (с точки зрения молекулярно-генетических особенностей), к вариантам клинического течения, прогнозу туберкулеза. Особенно важным является обоснование персонализированных подходов к лечению на основании комплексного подхода к изучению генетически детерминированных особенностей у больных туберкулезом.

Комплекс исследований, который изучался в диссертации, внедрен и используются в работе 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» и учебном процессе кафедр ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России при преподавании дисциплин у студентов 3-4-6 курсов лечебного, педиатрического, медико-профилактического и фармацевтического факультетов.

Важным аспектом является то, что 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., где автор была ответственным исполнителем. Таким образом, практическая значимость работы тесно связан с теоретической составляющей. Полученные автором данные расширяют и дополняют существующие представления об клинико-генетических особенностях туберкулеза органов дыхания. К наиболее значимым достижениям с научной и клинической точки зрения следует отнести разработку персонализированных подходов к фармакотерапии туберкулеза легких.

Структура и основное содержание диссертации

Диссертация Степановой Н.А. имеет общепринятую структуру, изложена на 317 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, включающих литературный обзор, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и обсуждения результатов, выводов, заключения, практических рекомендаций и указателя используемой литературы. Иллюстрирована 83 таблицами и 49 рисунками. Список литературы включает 380 отечественных и 193 иностранных источников. Материалы диссертации доложены на 19 всероссийских и международных конгрессах и конференциях. По теме диссертации опубликовано 43 работы, из них 17 в журналах, рекомендованных ВАК, в том числе 7 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science. Получено 2 Патента РФ на изобретение.

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, апробация и внедрение результатов исследования, публикации, а также сведения о структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы отражает актуальность избранной темы исследования, знание автором отечественной и зарубежной литературы. Всесторонне проанализированы данные о эпидемической ситуации туберкулезной инфекции в Российской Федерации и Астраханской области в настоящее время, о влиянии носительства полиморфных аллелей

генов на формирование индивидуального ответа на специфическую химиотерапию, о генетическом полиморфизме генов иммунного ответа системы *HLA – DRB 1, HLA-DQA1, HLA-DQB1*, о факторах, влияющих на эффективность специфической химиотерапии туберкулеза легких на современном этапе. Автор выделила малоизученные аспекты и спорные вопросы. На основании анализа 573 источников литературы автором доказана необходимость проведения данного исследования, актуальность и своевременность которого не вызывает сомнения. Автор утверждает, что несмотря на достижения в этой области, в том числе и с применением наукоемких технологий, имеется ряд крупных нерешенных задач. На сегодняшний день отсутствуют общепринятые подходы по выявлению прерасположенности к туберкулезу, адресные схемы к повышению безопасности и эффективности противотуберкулезной терапии, позволяющие улучшить переносимость специфического лечения, уменьшить количество НПП, тем самым, возможно уменьшить сроки бактериовыделения и уменьшить количество осложнений.

Таким образом тема диссертационного исследования имеет значительную научную актуальность и практическое значение.

Во второй главе представлен дизайн исследования, подробно описаны методы обязательного общеклинического, фармакогенетического исследования, лабораторной диагностики. Исследование выполнялось в 5 этапов: 1. Анализ результатов фундаментальных и поисковых исследований отечественных и зарубежных ученых и составление аналитического литературного обзора. 2. Генотипирование: изучение полиморфизма генов *NAT2, GSTM1, GSTT1, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1*. 3. Разработка и выбор направлений исследования: определение цели, задач, практической значимости. 4. Выявление ассоциативных связей (полиморфизм *NAT2* и частота НПП на ПТП; полиморфизм *GSTM1* и *GSTT1* и степень 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). 5. Разработка персонализированных клинико-генетических подходов к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулеза органов дыхания и оценки их клинической эффективности. Для достижения поставленной цели и решения задач использован современный комплекс наукоемких методов исследования: эпидемиологический, клинический, молекулярно-генетический, лабораторный, аналитический, экспертный и статистический (программы Microsoft Excel для Windows 10 Pro).

В третьей главе подробно представлены результаты собственных исследований. Показано, что у пациентов, больных туберкулезом легких, проживающих в Астраханском регионе обнаружена высокая частота встречаемости полиморфных вариантов генов биотрансформации *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, предопределяющих эффективность и безопасность специфической химиотерапии. Автор определил, что наиболее неблагоприятным маркером тяжелого течения туберкулеза органов дыхания является одновременная делеция генов *GSTM1*, *GSTT1*. Изучение генов иммунного ответа *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* у больных туберкулезом легких выявило прогностически неблагоприятную значимость 04*,14*,16* аллелей гена *DRB1*; 0501* аллеля *DQA1*, 0201* аллеля *DQB1* в плане предикторов прогрессирующего течения специфического процесса. Диссертантом обнаружена корреляционная зависимость между предикторами развития туберкулеза органов дыхания и концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Концентрация провоспалительных цитокинов – ФНО- α , ИЛ 1- β превышала референсные значения в 2 и более раз у пациентов носителей 04*,14*,16* аллелей гена *DRB1*; 0501* *DQA1*, 0201* аллеля *DQB1*, тогда как концентрация противовоспалительных цитокинов (ИНФ- γ , ИЛ-2, ИЛ-10) была резко снижена. У носителей трехлокусного гаплотипа, содержащего 04*,14*,16* аллелей гена *DRB1*; 0501* *DQA1*, 0201* *DQB1* клиническая картина характеризовалась выраженной интенсивностью интоксикационного, бронхолегочного синдромов.

Четвертая глава посвящена вопросам эффективности специфической химиотерапии туберкулеза органов дыхания в зависимости от генетического полиморфизма генов системы биотрансформации (*NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*), генетического полиморфизма гена иммунного ответа *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и вариабельности цитокиновой активности. Так, высокая эффективность лечения и удовлетворительная переносимость специфической ПТП определена у пациентов с гомозиготными генотипами *GSTM1* и *GSTT1*. При делеции одного или одновременно двух генов *GSTM1* и *GSTT1* и при носительстве медленного аллеля *NAT2* частота нежелательных побочных реакций достигает 80%. У носителей трехлокусного гаплотипа, содержащего 04*,14*,16* аллелей гена *DRB1*; 0501* *DQA1*, 0201* *DQB1* отмечалась низкая эффективность специфической химиотерапии, что подтверждалось данными рентгенологической симптоматики и длительно сохраняющимися высокими концентрациями провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. На основании проведенного генетического тестирования, данных комплексного клиничко-инструментального и лабораторного обследования пациентов, страдающих туберкулезом органов дыхания, разработаны и клинически апробированы подходы персонализированного лечения, позволяющие повысить эффективность терапии и

уменьшить количество нежелательных побочных реакций. Работа иллюстрирована 22-мя клиническими наблюдениями.

Заключение логично подводит итог проведенного исследования. Восемь выводов и семь практических рекомендаций соответствуют цели и задачам научной работы.

Выводы научно обоснованы большим количеством наблюдений, правильной методологией исследования и статистически достоверны, аргументированы. Автореферат диссертационной работы соответствует всем требованиям к его оформлению, а также содержанию и выводам диссертации. Результаты диссертационного исследования используются в работе 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» и учебном процессе кафедр ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России при преподавании дисциплин у студентов 3-4-6 курсов лечебного, педиатрического, медико-профилактического и фармацевтического факультетов.

Следует отметить хороший литературный язык и грамотность автора, отличную иллюстрацию работы рисунками, таблицами, графиками, клиническими примерами. По построению, объему, оформлению и изложению материала диссертация полностью соответствует требованиям ВАК.

Автореферат диссертации, а также 43 печатные работы, в том числе 17 в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, 7 из которых опубликованы в журналах, входящих в международные базы цитирования Scopus и Web of Science, полностью отражают основные положения работы. Получено 2 патента РФ на изобретение. Результаты исследования доложены на 19 всероссийских конгрессах и конференциях, в том числе с международным участием. По построению, объему, оформлению и изложению материала диссертация полностью соответствует критериям ВАК.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Вопросы, рассмотренные в диссертационном исследовании, имеют большое теоретическое научное и практическое значение. Результаты диссертационного исследования внедрены в работу амбулаторных отделений и стационаров ГБУЗ АО «Областной клинический противотуберкулёзный диспансер», в частности «Способ прогнозирования риска

развития нежелательных побочных реакций при лечении туберкулёза легких», а «Способ оценки степени выраженности интоксикационного синдрома» в учебный процесс кафедры ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Полученные в работе результаты диктуют необходимость включения данных исследований в действующие приказы Министерства здравоохранения Российской Федерации и клинические рекомендации. Принципиальных замечаний по диссертационной работе Н.А. Степановой нет, но есть пожелания – по материалам диссертации написать методические рекомендации для врачей фтизиатров и монографию.

Вызывает интерес и, в дальнейшем, можно рекомендовать сравнительное изучение молекулярно-генетических показателей в других регионах Российской Федерации для более широкого внедрения и понимания особенностей течения туберкулеза на территории страны.

Кроме этого, изучение фармакоэкономической целесообразности применения этих показателей для более широкого внедрения в практическое здравоохранение позволит обосновать широкое внедрение данных исследований. Такой персонализированный подход к лечению больных туберкулезом может существенно снизить материальные расходы при лечении больных туберкулезом.

Личное участие соискателя в получении результатов

Автором непосредственно осуществлен аналитический обзор современной научной литературы, проведен информационно-патентный поиск; составлен дизайн исследования, выполнена разработка электронной картотеки, производился сбор клинических данных и биологических образцов, анализ, статистическая обработка и оформление результатов диссертационного исследования. Автор участвовала в клиническом обследовании пациентов, организовала проведение лабораторных и инструментальных исследований, принимала непосредственное участие в обследовании и лечении пациентов.

Заключение

Диссертация Степановой Натальи Александровны «Персонализированные подходы к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии туберкулёза органов дыхания», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология является масштабной законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема медицинской помощи населению Астраханской области при туберкулезе легких, предложена методология совершенствования методов оценки течения

и исходов у больных туберкулезом легких, разработаны новые теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение во фтизиатрии, которое содержит новые персонализированные подходы к повышению эффективности лечения туберкулеза.

По актуальности решенной проблемы, объему исследуемого материала, методическому уровню, научной и практической значимости диссертационная работа Степановой Н.А. соответствует требованиям п. 9-10 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, 01.10.2018 г. № 1168, 20.03.2021 №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.26. Фтизиатрия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент,
Заведующий кафедрой туберкулеза
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
профессор, доктор медицинских наук

Шовкун Людмила Анатольевна

Подпись профессора Л.А. Шовкун заверяю
Ученый секретарь ученого совета ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, доцент



Сапронова Н.Г.

Адрес: 344022, г. Российская Федерация, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону,
переулок Нахичеванский, 29

Телефон: 8 (863)263-44-07, e-mail: lshovkun@mail.ru

« 4 » _____ мая _____ 2022 _____ г.