

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой детских болезней бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа-Югры «Сургутский государственный университет» Мещерякова Виталия Витальевича на диссертационную работу Хачиян Магды Мелсиковны «Клинико-генетическая характеристика детей и подростков с муковисцидозом в Краснодарском крае и оценка роли стафилококковой инфекции при муковисцидозе», представленную к защите в диссертационный совет 21.2.052.02 при ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия

Актуальность темы исследования. Муковисцидоз (МВ) представляет собой самое частое моногенное заболевание с полиорганным поражением и неуклонно прогрессирующим естественным течением, регресс которого может быть достигнут при условии своевременно начатой, регулярной и адекватной базисной терапии. Медицинская помощь при МВ ресурсоёмкая, характеризуется необходимостью привлечения специально обученного квалифицированного медицинского персонала, применения дорогостоящих лекарств, оборудования и расходных материалов. Для осуществления специализированной и высокотехнологичной помощи пациентам с этим заболеванием созданы и функционируют центры МВ при федеральных и региональных медицинских организациях. Внедрение в РФ современных методов ранней диагностики на основе неонатального скрининга и секвенирования гена *CFTR* обеспечили возможность своевременного начала базисной терапии. Применение высокоэффективных её методов, новым направлением которой служит таргетная терапия, позволяет значительно замедлить прогрессирование заболевания и снизить частоту осложнений.

Новым направлением в изучении МВ является исследование его особенностей в различных региональных условиях, которые могут значительно различаться в пределах РФ. Отличия когорт пациентов с МВ на различных территориях могут касаться, прежде всего, структуры мутаций гена *CFTR* вследствие этнических различий между регионами, что напрямую отражается и на

фенотипе болезни. Контрастные на обширной территории России климато-географические и экологические различия не могут не влиять на течение МВ. Большое значение имеют и медико-организационные особенности регионов, которые различаются между собой уровнем доступности медицинской помощи пациентам с этой патологией.

Совершенствование медицинской помощи в конкретном регионе должно предполагать проведение сравнительного анализа клинико-эпидемиологических, генетических и функционально-лабораторных особенностей когорты пациентов с этим заболеванием с таковыми на других территориях и в РФ в целом. Это может быть обеспечено только на основе единого подхода к анализу данных, наиболее подходящим инструментом чего следует считать регистр больных МВ. Сравнительный мониторинг регистров может быть основой для выявления недостатков и определения подходов по оптимизации помощи больным МВ в конкретном регионе.

Наиболее значимым и определяющим, с точки зрения прогноза и исхода болезни, является характер течения хронического бронхолёгочного процесса, поддерживаемого бактериальной флорой, лёгкое обсеменение которой связано с нарушением мукоцилиарного клиренса вследствие повышения вязкости бронхиального секрета. Известно, что микробный пейзаж мокроты напрямую влияет на тяжесть бронхолёгочного процесса и его прогресс. Микробиологический мониторинг мокроты в когорте пациентов с МВ позволяет оптимизировать подходы к антибактериальной терапии заболевания к профилактике перекрёстного инфицирования пациентов в рамках деятельности регионального центра МВ.

Совершенствование подходов к антибактериальной терапии при МВ предполагает, прежде всего, детальный микробиологический анализ отдельных значимых для этого заболевания бактериальных агентов. Ранее были изучены российские генотипы *Burkholderia cepacia complex* и *Pseudomonas aeruginosa*, показано, что их персистенция связана как с внутрибольничным заражением, так и с их присутствием в окружающей среде. Для *Staphylococcus aureus* подобных детальных исследований не проводилось. В этом смысле наиболее важным и перспективным следует признать исследования по колонизации *MRSA* и его

микробиологической характеристике у пациентов с хроническим бронхолёгочным процессом при МВ. Исследование микробиологического профиля и определение чувствительности к антибактериальным препаратам у больных МВ имеет важное значение для разработки рекомендаций по антибактериальной терапии с учётом особенностей когорты пациентов конкретного региона.

Изложенное выше подтверждает, что исследование региональных особенностей когорты детей и подростков с МВ на примере Краснодарского края на основе сравнительного анализа регистров пациентов различных территорий и РФ в целом, изучение фенотипической и генетической гетерогенности *Staphylococcus aureus* при хроническом бронхолёгочном процессе является важной научно-практической задачей, решению которой и посвящено диссертационное исследование М.М. Хачиян.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается представительностью и достоверностью исходных данных. Работа выполнена на достаточном клиническом материале: проанализированы данные историй болезни и амбулаторных карт 70 пациентов (54 - дети) с МВ Краснодарского края в 2011 году, 92 пациентов (68 - дети) - в 2015 году, а в 2018 году - данные 94 (77 - дети) пациентов. За период с 2010 по 2020 гг. было исследовано 2189 посевов мокроты и трахеобронхиального секрета пациентов края. Проведено сравнение состояния здоровья и объем получаемой терапии в 2015 году у 68 пациентов Краснодарского края (34 мужского и 34 женского пола), с показателями по г. Москве (233 пациента), в Московской области (131 пациент), в Красноярском крае (59 пациентов). Для исследования роли и эволюции *S. aureus* служили: данные анкетирования больных муковисцидозом в РФ и 556 изолятов *S. aureus*, из которых 479 были выделены от детей и 77 - от взрослых больных МВ в период с 2006 по 2017 год.

Качество микробиологических исследований обеспечивалось проведением их на базе ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. В исследовании использованы современные подходы к оценке клинических данных пациентов с МВ, результаты генной диагностики заболевания, информативные

инструментальные, лабораторные методы. Принцип единого подхода при сравнении клинико-эпидемиологических, генетических, инструментальных и лабораторных характеристик пациентов из различных территорий РФ обеспечивался использованием однотипных региональных регистров, соответствующих по структуре Европейскому регистру больных МВ.

Работа выполнена в соответствии с современными принципами доказательной медицины, как в части клинической эпидемиологии, так и медико-биологической статистики. Автором представлены в описательном виде дизайн исследования и обоснованно выбраны использованные им методы статистики.

Всё это позволяет заключить о достоверности полученных соискателем результатов, сформулированных выводов и практических рекомендаций.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Научная новизна исследования и полученных результатов не вызывает сомнений и заключается в следующем.

Впервые установлены особенности когорты детей и подростков с МВ в региональных условиях Краснодарского края (эпидемиологические, клинические, генетические, функциональные и лабораторные) при сравнительном анализе регистров пациентов с МВ Краснодарского края, Москвы, Московской области, Красноярского края и Российской Федерации в целом.

Впервые установлен региональный показатель заболеваемости МВ за период 2011-2018 г.г. в условиях внедрения массового неонатального скрининга - 11,0-15,8 на 100 000 новорождённых.

Автором впервые установлены особенности частоты и структуры мутаций в гене *CFTR* в когорте детей и подростков с МВ в Краснодарском крае - значительно более частая, чем в РФ в целом, встречаемость "тяжёлых" мутаций, в частности - *F508del / F508del* (42,9%).

Установлено, что наиболее значимой клинической особенностью детей и подростков с МВ в Краснодарском крае является более низкий нутритивный статус пациентов, в сравнении с общероссийским показателем.

Установлены особенности микробного пейзажа респираторного тракта

пациентов Краснодарского края с МВ – более частая встречаемость хронической колонизации *Pseudomonas aeruginosa* и более низкая распространённость *Staphylococcus aureus*, чем в РФ в целом.

Впервые описана чувствительность и резистентность грамотрицательной и грамположительной флоры в динамике с 2011 по 2018 годы. С учетом полученных результатов были разработаны мероприятия по улучшению медицинской помощи пациентам с МВ и получен положительный результат. Была проведена оценка распространенности хронической стафилококковой инфекции и выявлены пути ее распространения на территории РФ. Изучены фенотипическая и генетическая гетерогенность *Staphylococcus aureus* и чувствительность *Staphylococcus aureus* к антибиотикам у пациентов с МВ в РФ.

Научно-практическая значимость результатов диссертационной работы. Установленные автором региональные показатели заболеваемости и распространённости МВ, особенности структуры мутаций в гене *CFTR* с большей частотой определяющих более неблагоприятное и требующее больших затрат на лечение её «тяжёлых» форм должны учитываться при планировании ресурсов здравоохранения по оказанию специализированной и высокотехнологичной помощи детям и подросткам с этим наследственным заболеванием в Краснодарском крае.

Сравнительный анализ регистров пациентов с МВ различных территорий и РФ в целом позволил автору обосновать необходимость учёта следующих особенностей лечебно-диагностических подходов при МВ в Краснодарском крае:

- более высокий, чем в РФ в целом, удельный вес неидентифицированных мутаций определяет необходимость внедрения современных методов генной диагностики, в т. ч. и с участием федеральных центров;

- более низкий нутритивный статус детей и подростков с МВ в Краснодарском крае требует совершенствования подходов к его коррекции, например, более широким внедрением современных методов нутритивной поддержки пациентов – использованием высококалорийных смесей и метода ночной гипералиментации;

- больший, чем в РФ, удельный вес больных с хронической колонизацией

Pseudomonas aeruginosa с прогрессивным течением бронхолегочного процесса объясняет и определяет необходимость более частого использования внутривенных и ингаляционных антибиотиков, ингаляционных стероидов и бронхолитиков.

На основании результатов исследования была усовершенствована оказываемая медицинская помощь пациентам МВ в детском возрасте в виде усиления мер по профилактике перекрестной инфекции, развитию амбулаторной помощи и внедрению современных методов базисной терапии.

Изучение чувствительности основных микробных патогенов дыхательного тракта к антимикробным препаратам у пациентов Краснодарского края помогло оптимизировать схемы рациональной антибактериальной терапии при МВ и привело к снижению количества лиц с *Pseudomonas aeruginosa*, наряду с мерами профилактики перекрестного инфицирования.

В результате исследования показано, что больные МВ РФ инфицированы не уникальными сиквенс-типами *S. aureus*, а сиквенс-типами, которые широко распространены среди населения России. Низкий процент эффективности эрадикации *S. aureus* и высокая частота формирования хронической стафилококковой инфекции показывает отсутствие необходимости в проведении эрадикационной антибактериальной терапии и обосновывает ее применение при эпизодах острых респираторных инфекций и обострениях хронического процесса со стороны легких.

MSSA являются фактором риска дальнейшего формирования хронической *MRSA* инфекции, что требует постоянного мониторинга чувствительности к антибактериальным препаратам. В исследовании доказано, что эпидемическим можно считать *MRSA* ST8 с SCCmec IV типом. Пациенты МВ являются его источником, что требует соблюдения профилактических мер, как при госпитализации, так и при динамическом наблюдении в амбулаторных условиях.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа Хачиян М.М. соответствует шифру научной специальности 3.1.21. Педиатрия. Педиатрия является отраслью медицинских наук. Областью данного исследования являются: пункты 1 - Рост, физическое,

половое и нервно-психическое развитие, состояние функциональных систем ребенка и пункт 5 - Клиника, диагностика и лечение врождённых и наследственных болезней.

Личный вклад автора. Автор непосредственно участвовал во всех этапах работы - в выборе направления исследования, постановке цели и задач; в клиничко-анамнестическом обследовании детей, сборе материалов по данным историй болезни для формирования регистров пациентов с МВ Краснодарского края; создании базы данных пациентов с различными генотипами; создании базы данных пациентов Краснодарского края согласно требованиям европейского регистра, с данными микрофлоры дыхательного тракта и чувствительностью к антибактериальным препаратам (2010-2020гг.); участии в сборе биоматериала для изучения стафилококковой инфекции в РФ, проведении ряда исследований, статистического анализа; разработке лечебных и профилактических мер; подготовке основных публикаций по теме исследования.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем учёной степени. По теме диссертации опубликованы 11 работ, в том числе 5 статьи в журналах рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных, из них 2 статьи, индексируются в базе SCOPUS. В указанных работах полностью изложены результаты диссертационного исследования.

Апробация результатов исследования. Исследование в начале его проведения (октябрь 2012 г.) одобрено Комитетом по этике ФГБНУ «МГНЦ». Диссертационная работа утверждена на заседании научно-координационного совета по педиатрии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера», протокол №770 от 01.12.2020 г.

Основные положения диссертации неоднократно доложены и обсуждены на отечественных и зарубежных научных форумах.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации. Диссертационная работа Хачиян М.М. написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка

литературы. Диссертация изложена на 168 страницах компьютерного текста, содержит 45 таблиц и 12 рисунков. Библиография включает 251 источника использованной литературы (72 – российских и 179 – зарубежных авторов). Диссертация написана хорошим литературным языком. Главы представляют собой самостоятельные разделы исследования, логично связаны между собой. Цель и задачи сформулированы четко, работа им полностью соответствует.

В обзоре литературы (Глава 1) анализируется достаточное для объективного представления о состоянии рассматриваемой в диссертации проблеме источников. Подробно рассмотрена роль регистров с МВ в РФ и мире. Автор всесторонне проанализировал роль стафилококковой инфекции при этом заболевании и как нозокомиальной инфекции, ее фенотипические и генотипические особенности.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» включает характеристику дизайна исследования, материалов и методов, использованных в работе. В исследование включены все пациенты с МВ, находившиеся на динамическом наблюдении в Краснодарском крае в 2011, 2015, 2018 гг., а также 556 изолятов *S. aureus* от пациентов с МВ. Методы обследования и статистической обработки данных соответствуют целям и задачам работы. Приведены критерии включения и исключения. Детально описаны использованные в ходе исследования клинико-лабораторные, микробиологические, эпидемиологические, молекулярно-генетические и функциональные методы исследования, а также указаны методы статистической обработки.

В Главе 3, посвященной результатам собственных исследований, дана подробная характеристика пациентов по данным регистров 2011, 2015 и 2018 годов и отмечены показатели, которые изменялись в динамике. Также описана характеристика пациентов с МВ в Краснодарском крае в сравнении с другими регионами (Москва и Московская область, Красноярский край) и отличия показателей края от сравниваемых регионов. В результате после 2015 года были сделаны выводы и в крае были внедрены меры профилактики перекрестной инфекции, открыт амбулаторный прием пациентов, внедрены рекомендации консенсуса по терапии.

Результаты данных регистра показали, что к 2018 году имела место положительная тенденция к сокращению пациентов, имеющих низкие показатели роста и массы тела, снижению числа детей с синегнойной инфекцией.

Показано, что для пациентов Краснодарского края характерна низкая частота стафилококковой инфекции, высокая частота синегнойной инфекции и рост высева мукоидных морфотипов и прогрессирование их множественной устойчивости к антибактериальным препаратам. Установлено, что в отношении мукоидных штаммов *P. aeruginosa* снижается активность карбапенемов и аминогликозидов, а также фторхинолонов и ингаляционного тобрамицина, что делает актуальным назначение в схемах ингибитор-защищенных β -лактамов и данное обстоятельство следует учитывать при назначении терапии. Изучена чувствительность к антибактериальным препаратам представителей неферментирующей грамотрицательной микрофлоры (*Burkholderia cepacia complex*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*). Приведены интересные клинические примеры двух пациентов с *P. aeruginosa* и *MRSA*.

Глава 4 посвящена исследованию хронической инфекции легких, вызванной *Staphylococcus aureus*, у пациентов с МВ. Хроническая стафилококковая инфекция встречается в 53,4% при тяжелом течении МВ, у 78,4% при легком и среднетяжелом и обусловлена как циркуляцией в дыхательных путях больного конкретного генотипа, так и разными генотипами, персистирующими одновременно или сменяющими друг друга. В дыхательном тракте пациентов с МВ обнаружены сиквенс-типы *S. aureus*, характерные для населения России. Установлено, что эпидемическим для российских пациентов является *MRSA* ST8 с SCCmec IV типом.

Глава 5 представлена итогами исследования и обсуждением полученных результатов с помощью данных исследований, проведенных ранее, таблиц и рисунков. Обоснованы основные научные положения. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из поставленных задач и соответствуют основным положениям диссертации, полностью отражают результаты исследования. Практические рекомендации сформулированы конкретно и применимы в клинической практике.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Текст диссертации соответствует основным положениям, выносимым на защиту и выводам. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к написанию диссертаций (ГОСТ Р 7.0.11-2011).

Диссертационная работа выполнена на хорошем научно-методическом уровне и представляет собой целостное, объемное и актуальное с научной и практической точки зрения научное исследование. В статистической обработке полученных данных были использованы современные статистические методы. Выводы отражают цель и задачи. Принципиальных недостатков в содержании и оформлении не выявлено.

При работе с диссертацией возникли следующие вопросы к соискателю, которые хотелось обсудить на публичной её защите.

1. С чем Вы связываете такую особенность структуры мутаций гена *CFTR* в Краснодарском крае, как большую частоту встречаемости пациентов с «тяжелым» генотипом, в частности *F508del / F508del* ?

2. С чем связано снижение чувствительности мукоидного фенотипа *P. aeruginosa* ко всем β-лактамным антибиотикам, а также к аминогликозидам и фторхинолонам. Как это определило подходы к антибактериальной терапии?

Заключение

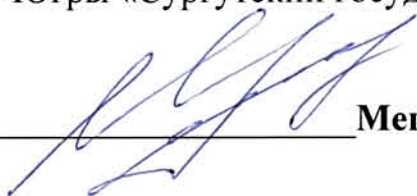
Диссертационная работа Хачиян Магды Мелсиковны «Клинико-генетическая характеристика детей и подростков с муковисцидозом в Краснодарском крае и оценка роли стафилококковой инфекции при муковисцидозе», выполненная под руководством д.м.н., профессора Елены Ивановны Кондратьевой и научном консультировании д.м.н. Марины Юрьевны Чернуха, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия, является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований решена важная научно-практическая задача в области педиатрии - обоснованию мер по повышению качества медицинской помощи детям и подросткам с муковисцидозом в региональных условиях на примере Краснодарского края на основе

сравнительного клинико-генетического научного анализа регистра заболевания с его общероссийским и отдельными территориальными аналогами, оптимизации лечебно-диагностических подходов при хронической стафилококковой инфекции дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом.

Диссертация по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Хачиян Магда Мелсиковна, достойна присуждения искомой учёной степени по специальности 3.1.21. Педиатрия.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук (3.1.21), профессор, заведующий кафедрой детских болезней бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»



Мещеряков Виталий Витальевич

Подпись доктора медицинских наук, профессора Мещерякова В.В.

УДОСТОВЕРЯЮ

Ученый секретарь учёного совета бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет» доктор биологических наук, доцент



Козлова Виктория Викторовна

«02» декабря 2021 г.

Контактные данные.

Адрес: 628412

Ханты – Мансийский автономный округ

Югра (86), Тюменская область,

г. Сургут, Проспект Ленина, 1.

Тел.(3462)76 29 00

e-mail: rector@surgu.ru

<http://www.surgu.ru>