

ОТЗЫВ

официального оппонента Никитиной Ирины Леоровны, доктора медицинских наук, профессора, заведующего НИЛ детской эндокринологии Института эндокринологии, заведующего кафедрой детских болезней лечебного факультета Института медицинского образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Туркуновой Марии Евгеньевны на тему «Клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности моногенных форм сахарного диабета у детей», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. – Педиатрия и 3.1.19. – Эндокринология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Научное исследование М.Е.Туркуновой посвящено решению важной для педиатрии и эндокринологии проблемы, касающейся обоснования оптимальных диагностических и терапевтических возможностей в отношении моногенных форм сахарного диабета у детей, базирующихся на совокупности клинических, биохимических и молекулярно-генетических характеристик данной группы патологии. Моногенный сахарный диабет имеет особенности клинической манифестации и динамической презентации заболевания. Ранняя корректная диагностика формы заболевания имеет большое значение для выбора адекватного, патогенетически обоснованного вида лечения. В связи с тем, что данный вид сахарного диабета является моногенным и для подтверждения диагноза необходимо установление варианта в генах-кандидатах, приоритетной задачей врача - клинициста является критериальный отбор пациентов, подлежащих направлению на молекулярно-генетическое исследование.

В настоящее время предложен ряд критериев для проведения подобного отбора, однако, при анализе данных литературы становится очевидным, что достаточно большая доля пациентов наблюдается с ошибочно установленным типом сахарного диабета, а в случае бессимптомной гипергликемии диагноз моногенного сахарного диабета может быть не установлен вовсе. Между тем длительная персистенция даже умеренной гипергликемии ведет к формированию отдаленных специфических осложнений диабета – микроангиопатий, приводящих со временем к снижению и потере функций ряда важных органов и систем.



Более того, до настоящего времени остаются не до конца ясными генетические причины ряда форм моногенного диабета, в то время, как другие варианты имеют значительную вариабельность клинического фенотипа, включающего синдромальные проявления разной степени выраженности. В проведенном М.Е. Туркуновой исследовании оценен широкий спектр параметров у пациентов с различными генетическими формами заболевания.

Таким образом, углубление понимания генеза моногенных форм сахарного диабета в детской популяции с точки зрения особенностей клинического течения и ответа на терапию, знание молекулярно-генетических характеристик пациентов с данной патологией позволит оптимизировать критерии диагностики и персонализировать программы терапии в данной группе, что составляет высокую научную актуальность и практическую значимость исследования М.Е. Туркуновой.

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

Наиболее существенными с точки зрения научной новизны являются следующие результаты исследования М.Е.Туркуновой.

Было установлено, что моногенный сахарный диабет является второй по частоте, после сахарного диабета 1 типа, причиной хронической гипергликемии у детей с сахарным диабетом в Санкт-Петербурге. М.Е.Туркуновой получены приоритетные данные о частоте молекулярно-генетического подтверждения моногенного диабета в группах детей с нетипичной клинической презентацией заболевания, причем среди подтвержденных вариантов MODY-диабета MODY 2 оказался безусловно доминирующим и составил 80%. В ходе диссертационного исследования М.Е. Туркуновой впервые в России описаны редкие варианты неонатального сахарного диабета, обусловленные вариантами генов *GATA6*, *GCK* и сахарный диабет, ассоциированный с вариантами в *SLC19A2*. Новыми также являются описания клинических фенотипов при ряде синдромальных форм моногенного диабета.

В диссертационной работе М.Е. Туркуновой проведено аналитическое сопоставление вариантов клинической презентации с характером выявленных каузативных вариантов как в таргетных для генетических форм диабета панелях, так и при применении новейших диагностических методик полноэкзомного секвенирования, показания к проведению которого также были четко сформированы. Впервые проведено обследование с применением методов секвенирования нового поколения пациентов детского возраста

Санкт-Петербурга с моногенными формами сахарного диабета. Часть установленных вариантов в генах оказались неописанными ранее и были отнесены к вариантам неопределенной значимости, однако описание их в сочетании с неоспоримой клиникой сахарного диабета внесло несомненный вклад в расширение генетических баз мутаций, ассоциированных с данным вариантом диабета у детей. Новыми также следует считать рекомендации по расширению таргетных генетических панелей диагностики моногенного сахарного диабета при использовании метода секвенирования нового поколения.

В целом, оценивая научную новизну исследования М.Е.Туркуновой, следует подчеркнуть его приоритетность, как комплексного анализа нетипичных форм сахарного диабета у детей с фокусом на генетические причины патологии и оценки индивидуального ответа на терапию препаратами инсулина, пероральными сахароснижающими препаратами и диетой.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Научно-исследовательская работа М.Е.Туркуновой имеет высокую значимость для практического здравоохранения. Автором охарактеризованы клинические, гормональные особенности когорты детей г. Санкт-Петербурга с моногенным сахарным диабетом в ассоциации с генетической природой данной патологии. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, расширяют представление об этиологии и патогенезе врожденных форм диабета, новых возможностях молекулярно-генетического обследования данной группы пациентов методом секвенирования нового поколения, а также об особенностях ответа на терапию у каждого конкретного пациента. Полученные в исследовании данные позволили автору унифицировать критерии дифференциальной диагностики MODY. По совокупности полученных данных в диссертационной работе предложен алгоритм диагностического поиска пациентов с моногенным сахарным диабетом. Практическому здравоохранению предложен достаточно простой и доступный врачам всех специальностей онлайн-калькулятор для выявления группы риска пациентов по наличию данной патологии.

Рекомендации, разработанные диссертантом, внедрены в работу врачей –детских эндокринологов амбулаторных и стационарных медицинских учреждений, а также используются в учебном процессе (программы высшего профессионального и последипломного образования по специальности «педиатрия» в рамках дисциплины «эндокринология»).

В целом результаты диссертации Туркуновой М.Е. обосновывают необходимость персонифицированного подхода в диагностике и лечении, с применением молекулярно-генетического исследования в группе пациентов с сахарным диабетом, манифестировавшим в первые 6 месяцев жизни и при "неклассическом" течении сахарного диабета в детском возрасте.

Научная обоснованность и достоверность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Методологической основой диссертационного исследования явились принципы и правила доказательной медицины. Работа выполнена в дизайне сравнительного открытого проспективного исследования. Научные положения, выводы, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы и являются результатом применения различных информативных и надежных методов комплексного обследования пациентов, адекватного статистического анализа, что позволило решить сформулированные автором задачи и достичь поставленной цели работы. Исследование выполнено на достаточном количестве клинических наблюдений. В исследование были включены 117 детей с сахарным диабетом, соответствовавшим критериям включения, а также с целью углубления молекулярно-генетического обследования были включены 3 sibsa и 23 родителя пациентов, у которых первоначально были идентифицированы генетические варианты. Автором подробно изложен дизайн исследования и тактика выбора пациентов-кандидатов. Работа выполнена на достаточно высоком методологическом уровне. Для проведения молекулярно-генетического исследования применен метод секвенирования нового поколения с использованием таргетной для моногенного диабета панели генов с последующим секвенированием по Сенгеру в случае установления каузативных генетических вариантов. Биоинформационный анализ выявленных нуклеотидных замен проведен корректно, использованы современные рекомендации ACMG 2015 года.

Автором применены современные методики математической обработки данных, что позволило обосновать сделанные в работе выводы и сформулировать практические рекомендации. Для создания цифровой прогностической модели риска моногенного сахарного диабета применен метод бинарной логистической регрессии с отбором независимых переменных. Достоверность полученных в ходе работы данных не вызывает сомнения.

Полученные выводы и положения, выносимые на защиту, логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам исследования. Результаты диссертационного исследования М.Е. Туркуновой не противоречат ранее опубликованным результатам как отечественных, так и зарубежных авторов, и при этом расширяют их. Подробный сравнительный анализ полученных результатов со сведениями из научной литературы последних лет позволяют получить представление о вкладе собственных данных автора в изучение данной тематики. Основные результаты исследования были представлены на российских и международных конференциях, опубликованы в рецензируемых научных журналах.

Оценка содержания и общая характеристика диссертации

Диссертация Туркуновой М.Е. написана в традиционной форме и построена по общепринятому принципу. Исследование изложено на 164 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания пациентов и методологии исследования, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка использованных сокращений и библиографического списка. Диссертация проиллюстрирована 21 таблицами, 21 рисунком. Список литературы обширен и включает 257 источников из них 22 отечественных и 235 зарубежных.

Во Введении диссертантом четко изложена приоритетность и актуальность изучаемой проблемы, в рамках которой определены и конкретно сформулированы цель и задачи исследования.

В главе «Обзор литературы» автор подробно описывает состояние проблемы на современном этапе, анализируя имеющиеся на данном этапе научные данные по изучаемой теме. В работе суммированы и подробно изложены эпидемиологические, патогенетические и терапевтические данные о различных вариантах моногенного сахарного диабета. Автором проведен обширный поиск, направленный на анализ существующих баз данных генетических причин сахарного диабета, проанализированы особенности клинических презентаций неонатального диабета, вариантов MODY и диабета в структуре генетических синдромов, обоснована роль генетического обследования при данной группе патологии и целесообразность проведения подобных исследований для возможности персонализации терапевтической тактики ведения. Текст изложен стилистически и грамматически корректно.

В главе, посвященной описанию пациентов и методов обследования, четко представлен дизайн исследования и обследуемые группы пациентов. Методологической основой диссертационного исследования явились принципы и правила доказательной медицины. Работа проведена в дизайне сравнительного проспективного клинического исследования, в ходе выполнения которого применялись инновационные методы обследования больных с сахарным диабетом. Всего в исследование включено 143 человека, из них 117 детей с сахарным диабетом, отвечающих критериям включения. Для решения поставленных задач, наряду со стандартными лабораторными методами, были использованы современные методы молекулярно-генетической диагностики. Секвенирование нового поколения включало в себя как анализ панели генов-кандидатов моногенных форм сахарного диабета: *GCG, GLUD1, WFS1, HNF1A, GCK, INS, HNF1B, ABCC8, HNF4A, RFX6, PTF1A, NEUROD1, AKT2, ZFP57, INSR, EIF2AK3, PPARG, PAX4, PDX1, GLIS3, KCNJ11, SLC16A1, FOXP3, BLK, CEL, KLF11, SCHAD, GCGR*, так и полноэкзомное секвенирование в ряде случаев. В ходе работы были выделены 2 группы в зависимости от выявления каузативного генетического варианта MODY (1-ая группа) или отсутствия такого варианта (2-ая группа). Родители и сибсы пациентов с диабетом были обследованы генетически после установления патогенного варианта у пробандов.

В главах, посвященных обсуждению собственных результатов, автором представлены, обсуждены и доказаны основные научные положения, полученные в ходе проведенного исследования. Проведен их сравнительный анализ с данными литературы.

В результате проведенного М.Е.Туркуновой исследования установлено, что генетическое подтверждение моногенной природы сахарного диабета было получено в 53,85% случаев, причем в группе неонатального диабета каузативный вариант был выявлен в 50%, а в группе MODY – в 54,64%; среди последних в подавляющем большинстве, а именно у 80% детей, имел место вариант MODY2. Показано, что в клинической презентации неонатального диабета гипергликемия может быть единственным, иногда транзиторным, симптомом, однако факт дебюта с «больших симптомов» и кетоацидоза также не исключает вероятности моногенного диабета у ребенка. На основании сравнительного анализа групп пациентов с установленными вариантами и без таковых были выявлены наиболее чувствительные маркеры MODY, а именно отягощенный по диабету семейный анамнез, сохранный уровень С-пептида (1,1-4,4 нг/мл), медленно прогрессирующее течение заболевания (HbA1C 6-7,1%) и отсутствие потребности в инсулинотерапии. Полученные результаты легли в

основу создания прогностической модели дифференциальной диагностики MODY, реализовавшейся разработкой калькулятора риска в форме мобильного приложения. В главе описания собственных результатов, представлен детальный анализ анамнестических, клинико-лабораторных и молекулярно-генетических характеристик пациентов с верифицированным генетически заболеванием. Практический интерес представляют описание в форме клинического разбора ключевых особенностей пациентов с крайне редкими моногенными синдромальными формами и неонатальным сахарным диабетом. В завершении главы автором проведен детальный анализ персонифицированного терапевтического подхода пациентов с различными вариантами моногенного сахарного диабета. В главе «Обсуждение результатов» автором подведены основные итоги проведенного исследования с акцентом на наиболее значимых результатах и сравнением с данными литературы, в основном зарубежной, что связано с малым количеством подобных отечественных работ. Обосновано применение разработанного автором алгоритма персонифицированной тактики в отношении данной группы пациентов.

Выводы целиком и полностью основаны на результатах собственных исследований и логично вытекают из материалов диссертации. Это позволяет признать полученные результаты значимыми, а выводы и положения, сформулированные в диссертации, вполне достоверными. Практические рекомендации сформулированы четко и корректно.

Апробация работы

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 2 в отечественных научных рецензируемых журналах, входящих в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук», рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертационного исследования.

Основные положения диссертации многократно обсуждены и доложены на региональных и национальных конференциях и конгрессах.

Личный вклад соискателя.

Личный вклад М.Е. Туркуновой состоит в непосредственном личном участии во всех этапах диссертационного исследования, включая этапы планирования, разработку дизайна, осуществление обзора и анализа

современной литературы, выполнения клинической части исследования, проведения медико-статистической обработки материала. Диссертация изложена статистически и профессионально грамотно, хорошо структурирована. Автореферат диссертации полностью отражает суть и содержание диссертации, а также основные научные выводы и практические рекомендации.

Представленные научные положения соответствуют отрасли «Медицинские науки», специальностям 3.1.21. – Педиатрия и 3.1.19. – Эндокринология.

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

В ходе рецензирования возникли следующие вопросы:

1. Проводилось ли молекулярно-генетическое обследование родителей и в каких случаях это было наиболее целесообразно?
2. У какого количества женщин был диагностирован гестационный диабет во время беременности, и проведено ли им впоследствии молекулярно-генетическое обследование?

Заключение

Диссертационная работа Марии Евгеньевны Туркуновой «Клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности моногенных форм сахарного диабета у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. – Педиатрия и 3.1.19. – Эндокринология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи педиатрии и эндокринологии, связанной с оптимизацией оказания помощи детям и подросткам с моногенным сахарным диабетом. Автором разработаны теоретические положения и практические рекомендации, направленные на персонификацию оказания медицинской помощи детям при моногенном сахарном диабете с учетом результатов молекулярно-генетического исследования.

По своей актуальности, новизне. Научно-практической значимости диссертация Марии Евгеньевны Туркуновой на тему «Клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности моногенных форм сахарного диабета у детей», полностью соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г.

№ 842 «О порядке присуждения ученых степеней» в редакции, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации № 355 от 21.04.2016 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук согласно а ее автор Мария Евгеньевна Туркунова заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. – Педиатрия и и 3.1.19. – Эндокринология.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой детских болезней
Лечебного факультета
Института медицинского образования
Заведующий НИЛ детской эндокринологии
Института эндокринологии
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России
(научная специальность 14.01.08 – Педиатрия)
доктор медицинских наук, профессор

Ирина Леоровна Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 197341, г. Санкт - 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.

тел. 8 (812) 702-37-30

E-mail: fmrc@almazovcentre.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой детских болезней лечебного факультета Института медицинского образования, заведующего НИЛ детской эндокринологии Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России Никитиной Ирины Леоровны «заверяю»

Ученый секретарь ФГБУ
«НМИЦ им. В.А.Алмазова»
Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор

А.О.Недошивин

«11» января 2022 года

