

ОТЗЫВ **официального оппонента**

доктора медицинских наук, профессора Шолохова Леонида Федоровича на диссертацию Каргиной Ирины Геннадьевны на тему: «Молекулярно-генетические механизмы патогенеза рахита у детей», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология.

Актуальность представленной диссертационной работы, которую выполнила Ирина Геннадьевна Каргина, бесспорна. В настоящее время установлено, что не менее 30-50% населения, проживающих как в Европе, так и США, имеют низкую обеспеченность витамином D (Намазова-Баранова Л.С., Макарова С.Г., Студеникин В.М., 2016). Более того, следует отметить, что в Российской Федерации около 70% детей в возрасте до 3-х лет жизни имеют недостаточный уровень витамина D.

Важность изучения роли витамина D в организме обусловлена и тем, что имеются данные и вновь появляются факты не только о костных (кальциемических) эффектах, но и совершенно новых его проявлениях – внекостных (некальциемических). Эти исследования являются результатом изменения к представлению витамина D в его классическом представлении, как витамина. Показано, что он является стероидным прегормоном с аутокринным, паракринным и эндокринным действием, влияющих на различные органы и ткани посредством геномных и негеномных эффектов.

В связи с этим раннее выявление недостаточности витамина D позволит заблаговременно принять меры к профилактике и лечению различных патологических состояний. Основными проявлениями низкой обеспеченности витамином D в классическом понимании остаются рахит, остеомалация и остеопороз.

В настоящее время появляется все больше исследований о полиморфизме генов VDR как о возможном факторе риска, обуславливающим предрасположенность к ряду инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Полиморфизм генов маркеров метаболизма костной ткани, так и их рецепторов оказывает существенное влияние на возникновение заболеваний костной системы, их профилактику, диагностику и назначение своевременного лечения. Индивидуальное генетическое прогнозирование в настоящее время занимает одно из важных мест в современной медицине. Прогнозирование развития рахита, основанное на распознавании и выделении генетических маркеров, позволит проводить превентивную диагностику заболевания с целью его адекватной профилактики и ранней диагностики.

Используя эти данные можно выявлять группу риска предрасположенности к заболеваниям костной системы, в том числе к рахиту, у конкретного пациента.

Несмотря на то, что достаточно хорошо изученными являются нарушения минерального и витаминного баланса, отдельные патогенетические механизмы развития рахита недостаточно исследованы. В частности, не ясна роль мутаций генов рецептора витамина D, коллагена и гормонов, регулирующих фосфорно-кальциевый обмен в патогенезе рахита.

Исходя из этого, изучение полиморфизмов генов VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], RANKL C>T [rs 9594738] и RANKL C>T [rs 9594759], а также их влияние на уровень кальцитриола, С-концевого телопептида коллагена I типа, остеопротегерина представляется перспективным для установления генетических предикторов рахита.

Все вышеизложенное и позволило сформулировать цель настоящего исследования, посвященную установлению биохимических и молекулярно-генетических закономерностей изменения метаболизма костной ткани при рахите у детей.

Поставленные задачи полностью отражают цель исследования.

Научная новизна диссертационного исследования представлена в описании первичного звена патогенеза рахита, которое включает

носительство SNP генов коллагена - COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], а также изменение уровня С-концевого телопептида коллагена I типа сыворотки крови.

Автором доказано, что концентрация С-концевого телопептида коллагена I типа сыворотки крови зависит от носительства SNP-варианта гена коллагена.

Соискателем выявлена патогенетическая ось рахита, включающая SNP генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], концентрацию кальцитриола, С-концевого телопептида коллагена I типа и остеопротегерина.

Установлено, что наличие минорной аллели А гена COL1A1: -1997 C>A и аллельного варианта Т промотора гена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] ассоциировано с развитием рахита у детей.

В исследовании представлены новые данные о распространенности SNP-вариантов генов рецептора витамина D (283 A>G (BsmI), 2 A>G (Lys2Arg) [FokI]), коллагена (COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]) и остеопротегерина (C>T [rs 9594738] и RANKL C>T [rs 9594759]) среди больных рахитом и у здоровых лиц в Забайкальском крае.

Теоретическая и практическая значимость работы безусловна и не вызывает сомнений. Результатом исследования является установление новых патогенетических закономерностей развития рахита у детей, а именно - выявлены предрасполагающие к рахиту полиморфизмы генов коллагена, а также изменения уровня С-концевого телопептида коллагена I типа в зависимости от выделенного генотипа генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]. По материалам проведенного исследования диссертантом сделан ряд внедрений в учебный процесс кафедр патологической физиологии, пропедевтики детских болезней и педиатрии ФПК и ППС. Практические результаты данной работы являются основой для

разработки новых подходов к оценке риска, профилактики, прогнозирования течения рахита с помощью математической модели.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка используемой литературы (118 отечественных и 82 зарубежных источников). Работа иллюстрирована 30 таблицами, 6 рисунками, 2 примерами.

Глава 1 - Обзор литературы посвящена оценке современных представлений о физиологической роли витамина D, патогенезу витамин D-дефицитного рахита. Достаточно подробно проведена дифференциальная диагностика рахита с другими заболеваниями, определены уровни некоторых маркеров минерализации костной ткани. Сделан вывод, что генетическая диагностика предрасположенности к рахиту мало изучена, что и послужило основой для проведения данного исследования.

Далее были представлены маркеры резорбции костной ткани, формирования костной ткани. В разделе гормональная регуляция обмена кальция и фосфора показаны данные о маркерах, участвующих в стимулировании и ингибировании всасывания кальция и реабсорбции фосфора.

В разделе полиморфизмы генов в патологии костной системы приведены общие представления о роли генетических факторов в патогенезе рахита, но отмечено, что остается достаточно вопросов относительно вклада конкретных генов, регулирующих рост и развитие костной системы. В связи с этим, поиск генетических маркеров, влияющих на возникновение и особенности течения рахита, представляет теоретический и практический интерес. На основании вышесказанного делается заключение, что дальнейшее изучение патофизиологической роли генетических факторов рецепторов витамина D и коллагена позволит существенно расширить представления о патогенезе рахита и сопутствующих ему заболеваний.

Глава 2 - Материалы и методы исследования.

Данная работа является одномоментным контролируемым клиническим сравнительным исследованием по типу случай-контроль. Проведено обследование 108 детей в возрасте от 3 месяцев до 2 лет, проживающих на территории Забайкальского края, получавших профилактическую дозу (500МЕ) витамина D в виде водного раствора. Вопрос: Это касается детей из клинических групп (острое, подострое течение с различной степенью тяжести) и контрольной?

Подробно описаны критерии включения и исключения в клинические группы и контрольную.

В работе использованы современные методы лабораторной диагностики, включающие иммуноферментный метод и полимеразно-цепную реакцию.

Автором выбраны адекватные методы статистической обработки.

Глава 3. Результаты собственных исследований.

3.1. Показатели метаболизма костной ткани в группах наблюдения.

В данном разделе показано, что биохимический состав крови пациентов, больных рахитом характеризуется низким уровнем кальцитриола, кальцитонина, кальция и фосфора сыворотки крови, а также высокими показателями концентрации С-концевого телопептида коллагена I типа, остеокальцина, остеопротегерина, кислой и щелочной фосфатаз и паратиреоидного гормона. Установлено, что наиболее выраженные изменения показателей наблюдались при 2 степени, вне зависимости от течения заболевания.

3.2. Исследование полиморфизмов генов метаболизма костной ткани и

3.3. «Прогностическое значение изучаемых показателей в развитии течения рахита у детей». Представлены результаты распределения SNP-вариантов генов коллагена, рецептора витамина D, остеопротегерина, а также их влияние на концентрацию молекул С-концевого телопептида коллагена I

типа, кальцитриола, остеопротегерина. Метод прогнозирования течения рахита был получен путем проведения множественного регрессионного анализа.

Глава 4. Обсуждение полученных результатов.

На основании полученных данных, предложена концептуальная схема патогенеза рахита, на которой представлены основные его звенья: снижение уровня кальцитриола, фосфора, кальция, кальцитонина; увеличение концентрации остеопротегерина, остеокальцина, β -CrossLaps, паратиреоидного гормона, активности кислой и щелочной фосфатаз. Предрасполагающими факторами в развитии рахита являются: носительство генотипа AA гена COL1A1: -1997 C>A, аллельного варианта T COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s].

Полученные результаты объясняют клеточные механизмы и молекулярное развитие событий в процессе ремоделирования костной ткани при данном патологическом состоянии.

Представленные положения, выносимые на защиту и выводы работы конкретны, соответствуют цели и задачам исследования. Достоверность полученных данных подтверждается применением достаточной выборкой обследованных лиц, использованием современных лабораторных методов диагностики и статистической обработки.

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации.

В ходе оппонирования работы возникли следующие вопросы, носящие непринципиальный характер:

1. Почему в исследованиях мальчики и девочки были объединены в одну группу?
2. Полученные результаты диссертации можно-ли применять в других регионах РФ?
3. Учитывался-ли фактор особенностей течения беременности?

Заключение

Диссертационное исследование Ирины Геннадьевны Каргиной на тему: «Молекулярно-генетические механизмы патогенеза рахита у детей», является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача по установлению ряда пусковых механизмов возникновения рахита у детей, имеющая важное значение для специальности патологическая физиология и медицины в целом. Научная работа И.Г. Каргиной соответствует пунктам: п. 2 - изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний; п. 3 - анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических механизмов; п. 8 - анализ взаимоотношений общего и частного, части и целого, единства и борьбы противоположностей в динамике развития патологического процесса; п. 9 - изучение этиологии, патогенетических и саногенетических механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики, паспорта специальности: 14.03.03 – патологическая физиология.

Таким образом, диссертационная работа Ирины Геннадьевны Каргиной на тему: «Молекулярно-генетические механизмы патогенеза рахита у детей» соответствует критериям, установленным п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки России, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакциях от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 28.08.2017 г. № 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор

заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 14.03.03 – патологическая физиология,

На обработку и размещение моих персональных данных в сети «Интернет» согласен.

«21» января 2020 г.

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», заведующий лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы, доктор медицинских наук, профессор

Шолохов Леонид Федорович

Данные о докторе медицинских наук, профессоре Шолохове Леониде Федоровиче заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», кандидат биологических наук

Рашидова Мария Александровна

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Адрес: 664003, Иркутская область, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8(3952)207-367; веб-сайт: health-family.ru; адрес электронной почты: iphr@sbamsr.irk.ru