

«УТВЕРЖДАЮ»



Директор  
ФГБУ «НМИЦ здоровья детей»  
Минздрава России,  
Заслуженный врач Российской Федерации  
д.м.н., профессор

Фисенко А.П.

«05» августа 2024 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Докшукиной Алины Алексеевны на тему: «Оптимизация диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся холестазом в период новорожденности», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21 – Педиатрия, 1.5.7 – Генетика.

### Актуальность темы выполненной работы

Холестаз в неонатальном периоде может быть спровоцирован различными причинами, такими как перинатальные инфекции, врожденные anomalies гепатобилиарной системы, эндокринопатии, перинатальная асфиксия и парентеральное питание. Частота неонатального холестаза составляет примерно 1 на 2500 живорождений. Билиарная атрезия является одной из основных причин и составляя 35–41% случаев. Многие заболевания, протекающие с неонатальным холестазом, включая различные метаболические нарушения, являются генетически детерминированными моногенными заболеваниями.

Моногенные заболевания с неонатальным холестазом составляют разнообразную группу с широким спектром клинических и лабораторных проявлений. Ранняя дифференциальная диагностика моногенных заболеваний

с неонатальным холестазом имеет решающее значение, поскольку эффективность своевременно начатого лечения часто зависит от сроков постановки диагноза. В настоящее время проведено мало исследований, сравнивающих клинические и лабораторные показатели различных генетически детерминированных состояний с неонатальным холестазом, а отсутствие стандартизированных алгоритмов дифференциальной диагностики приводит к задержке выявления и лечения заболевания.

Появление молекулярно-генетических технологий позволило выявить новые генетические причины неонатального холестаза, значительно сократив количество случаев, ранее классифицированных как идиопатический неонатальный холестаз. Ожидается, что такие диагностические инструменты будут увеличивать долю новых генетических причин у пациентов с неонатальным холестазом.

Ранняя диагностика моногенных заболеваний, ассоциированных с неонатальным холестазом, является актуальной проблемой, решение которой позволит своевременно поставить диагноз, определить необходимость дальнейших исследований для пациента и/или его семьи и начать своевременное лечение. Кроме того, это облегчит пренатальную диагностику при последующих беременностях или использование вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационной генетической диагностикой.

На основании вышеизложенного диссертационная работа Докшукиной Алины Алексеевны, посвященная оптимизации алгоритма диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся холестазом в периоде новорожденности, является чрезвычайно актуальной.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация Докшукиной Алина Алексеевны посвящена изучению клинико-лабораторных и инструментальных особенностей моногенных заболеваний с неонатальным холестазом, определению эффективности молекулярно-генетических методов. Диссертационная работа Докшукиной

А.А. соответствует шифрам специальностей 3.1.21. Педиатрия и 1.5.7 Генетика.

### **Научная новизна результатов проведенного исследования**

В ходе настоящего исследования, проведенного с использованием полноэкзомного секвенирования, были обнаружены и детально описаны уникальные генетические варианты. Один из ключевых моментов исследования - впервые было установлено, что при редких формах моногенных заболеваний с неонатальным холестазом почти в трети случаев отмечают клинико-лабораторные и инструментальные признаки билиарной атрезии.

В ходе данного исследования проведена оптимизация алгоритма дифференциальной диагностики моногенных заболеваний с неонатальным холестазом. Настоящий алгоритм основан на детальном изучении ключевых клинико-лабораторных и инструментальных симптомов заболевания. Внедрение данного алгоритма в широкую практику может значительно улучшить раннюю диагностику и, как следствие, улучшить результаты лечения и прогноз заболеваний.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

В рамках настоящего исследования у детей первых 3 месяцев жизни с клиническими и ультразвуковыми признаками билиарной атрезии определена необходимость проведения обследования, направленного на исключение моногенных заболеваний.

Разработан оптимизированный алгоритм диагностического поиска у детей с подозрением на генетическую этиологию синдрома холестаза на основании сравнительного анализа ключевых клинико-лабораторных и инструментальных показателей, а также результатов оценки эффективности проведенных молекулярно-генетических методов.

Полученные результаты обладают значительным прикладным потенциалом и могут быть применены специалистами в области неонатологии и педиатрии в их практической деятельности.

Автор уделил особое внимание ранним клиническим симптомам и срокам их манифестации у детей с неонатальным холестазом при разных моногенных заболеваниях. На основе полученных данных был предложен алгоритм обследования новорожденных, который может способствовать ранней диагностике заболевания. Рецензируемая работа представляет собой значительный шаг вперед по оптимизации тактики ведения детей с данной патологией.

### **Личный вклад автора**

Автор данного исследования активно участвовал во всех этапах научного процесса. Как практикующий неонатолог и генетик, Алина Алексеевна принимала участие в лечебно-диагностических процедурах, а также автором проведен большой объем аналитической работы по интерпретации полученных результатов.

Первичные клиничко-лабораторные данные были собраны в ходе непосредственного взаимодействия с пациентами, что обеспечивает точность и достоверность информации, исключая возможность информационного искажения или потери данных. Основная работа включала в себя ретроспективный анализ медицинской документации и проспективное исследование, выполненное в соответствии с тщательно разработанным планом обследования и наблюдения за детьми.

Автор принял на себя полную ответственность за каждый этап научного исследования, начиная с формулирования целей и задач, разработки методологического дизайна и заканчивая сбором данных, их анализом и интерпретацией. Результатом стала работа, выполнившая полный цикл научного исследования, что демонстрирует высокую степень научной самостоятельности и профессионализма автора.

### **Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации**

Результаты данной научно-исследовательской работы представляют

интерес и научную ценность для широкого круга медицинских специалистов и могут быть применены в различных сферах клинической практики. Прежде всего, врачи-неонатологи, реаниматологи родовспомогательных учреждений РФ смогут использовать полученные данные при выборе подходов к оптимизации ранней дифференциальной диагностики неонатального холестаза. Это позволит своевременно обнаруживать патологию и приступать к лечению, что значительно улучшит прогноз и качество жизни пациентов. Вторая важная область применения результатов исследования - практика врачей-педиатров и врачей-генетиков амбулаторного звена. Наконец, специализированные учреждения, осуществляющие оперативное лечение детей с данной патологией, смогут применить результаты исследования для определения дальнейшей тактики ведения пациента.

Таким образом, данные научного исследования Докшукиной А.А. могут стать основой для комплексного улучшения процесса диагностики причин неонатального холестаза у детей на всех этапах оказания медицинской помощи.

#### **Публикации по теме исследования**

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, из них 4 в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований, а также 1 статья в зарубежном научном журнале. Полученные результаты представлены в виде устных докладов на российских и международных конференциях и конгрессах.

#### **Оценка содержания диссертации и ее завершенность**

Данная диссертационная работа представляет собой глубоко проработанный научный труд, изложенный на 135 страницах. Материал диссертации включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, обширную главу собственных исследований, обобщение полученных результатов, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 154 источника: 15 отечественных и 139

зарубежных авторов. Для наглядности изложения материала и удобства его восприятия в диссертации приведено достаточное количество иллюстративного материала: 23 рисунка, образно отражающие основные моменты исследования, и 30 таблиц, представляющие собой сжатую форму изложения статистических и иных данных, подлежащих количественному анализу.

Диссертация представлена в строгом научном стиле, с ясно определенными объектом и предметом исследования. Автор убедительно аргументирует основные положения, предлагаемые к защите. Обширный обзор литературы **в первой главе** подробно освещает проблему и анализирует современное состояние науки по генетическим причинам заболевания. **Вторая глава** раскрывает методологию исследования на основе анализа 188 историй болезней и амбулаторных карт детей с неонатальным холестазом. Использование высокотехнологичных методов исследования и тщательная статистическая обработка данных подтверждают надежность полученных результатов. **Третья глава**, представляющая результаты собственных исследований, отражает научную новизну и практическую значимость работы. Заключение включает последовательное обсуждение результатов исследования, обобщает выводы и подчеркивает их соответствие поставленным задачам. Все ссылки и источники оформлены в соответствии с ГОСТ.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Диссертационная работа Докшукиной Алины Алексеевны отражает необходимое владение темой и научной методологией. Глубокий и доскональный анализ изучаемой проблемы демонстрирует несомненную академическую зрелость автора. Научная составляющая и обоснованность проведенных исследований сочетаются с практической ценностью полученных результатов в области педиатрии и генетики.

Вместе с тем в тексте имеются некоторые стилистические

несоответствия и недостатки. В главе «Материалы и методы исследования» отсутствует протокол полногеномного секвенирования. В разделе Выводы отсутствует вывод к задаче №4 («Оптимизировать и внедрить в клиническую практику алгоритм дифференциальной диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся неонатальным холестаазом»), при этом результаты выполнения этой задачи в той или иной форме можно найти в тексте диссертации. Кроме того, в выводах к работе автор указывает, что доля выявленных моногенных заболеваний, проявляющихся неонатальным холестаазом, при секвенировании панели составила 9%, а полного экзема - 25%, что ниже данных выявляемости, опубликованных в литературе [Nicastro E. et al., 2019]. В этой связи предложения автора по повышению выявляемости моногенных болезней придали бы работе дополнительную ценность. Использование технологии ХМА для поиска протяженных делеций хромосомной области 20p12.2, обуславливающих синдром Алажилля, очевидно, избыточно, особенно с последовательным применением чипов разной плотности, и значительно удорожает исследование по сравнению с методами количественной ПЦР в режиме реального времени и мультиплексной лигазозависимой амплификации проб. Обоснование причины выбора ХМА внесло бы ясность в описание дизайна эксперимента. В диссертации указано 118 детей с «генетически подтвержденными моногенными заболеваниями», из которых лишь у 70 приведены генетические варианты, явившиеся, по мнению автора, причиной этих болезней, и лишь у 32 (27%) пациентов выявленные генетические варианты классифицированы в соответствии с рекомендациями Руководства по интерпретации данных последовательности ДНК человека. При этом среди неклассифицированных генетических вариантов, есть варианты с высокими популяционными частотами, в том числе варианты, отмеченные в международных базах данных как доброкачественные, к примеру, синонимичный вариант *c.696T>C* гена *ATP8B1*. В тексте диссертации не удалось найти объяснения, на основании чего автор принимает таких детей за «пациентов с генетически подтвержденными моногенными заболеваниями».

Кроме того, у нескольких пациентов приведены исключительно варианты аминокислотной последовательности, что вносит неразбериху в интерпретацию полученных результатов, так как каждому из этих вариантов могут соответствовать несколько вариантов нуклеотидной последовательности. Рекомендуется использовать единую принятую мировым научным сообществом номенклатуру генетических вариантов HGVS. Наконец, концепция данной работы предполагает и сравнительный анализ эффективности разных подходов к диагностике, но доказательной базы, позволяющей провести такое сравнение, в работе не представлено. В разделе Практические рекомендации хотелось бы увидеть рекомендации по консультированию семей и коррекции тактики терапии в зависимости от полученных результатов.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Докшукиной Алины Алексеевны нет. Все вышеизложенное не снижает общей научной и практической ценности исследования, а изучение генетических причин неонатального холестаза, представленное в работе, является очередным шагом вперед в осмыслении этого заболевания и вносит фундаментальный научный вклад в его изучение.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Докшукиной Алины Алексеевны на тему «Оптимизация диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся холестазом в период новорожденности» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по оптимизации диагностики и тактики ведения детей с моногенными заболеваниями с неонатальным холестазом на основании клинико-лабораторных, ультразвуковых и молекулярно-генетических параметров, что соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842

от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016г.), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Докшукина А.А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21 – Педиатрия и 1.5.7 – Генетика.

Отзыв о диссертационной работе Докшукиной Алины Алексеевны заслушан и утвержден на заседании Проблемной комиссии по Педиатрии федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации протокол № 78 от 05 августа 2024 года

Начальник центра воспалительных заболеваний кишечника у детей, заведующий гастроэнтерологическим отделением ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России д.м.н., профессор (3.1.21. Педиатрия)

А.С. Потапов

Начальник медико-генетического центра, заведующий лабораторией медицинской геномики, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России д.б.н. (1.5.7. Генетика)

К.В. Савостьянов

Подписи д.м.н., проф. А.С.Потапова и д.б.н. К.В.Савостьянова заверяю:

Первый заместитель директора ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России д.м.н.



О.В. Комарова

Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации; директор - доктор медицинских наук, профессор Фисенко Андрей Петрович (119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1,  
Телефон: +7 (495) 967-14-20  
Электронная почта: [director@nczd.ru](mailto:director@nczd.ru)  
Адрес в сети интернет: <https://nczd.ru/>

В диссертационный совет  
Д 21.1.025.01 на базе ФГБУ «Национальный Медицинский  
исследовательский центр детской гематологии, онкологии и  
иммунологии имени Дмитрия Рогачева»

Минздрава России

по адресу: 117997, г.Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

по диссертации Докшукиной Алины Алексеевны на тему «Оптимизация диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся холестазом в период новорожденности», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21 Педиатрия и 1.5.7. Генетика.

### СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Полное и сокращенное название ведущей организации	Полное наименование: федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации Сокращенное наименование: ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России
Фамилия Имя Отчество Ученая степень, ученое звание руководителя ведущей организации	ДИРЕКТОР Фисенко Андрей Петрович Заслуженный врач Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор
Фамилия Имя Отчество лица, утвердившего отзыв ведущей организации, ученая степень, отрасль науки, научные специальности, по которым им защищена диссертация, ученое звание, должность и полное наименование организации, являющейся основным местом его работы	Фисенко Андрей Петрович Доктор медицинских наук Медицинские науки Профессор Директор федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации  Согласен на обработку персональных данных

<p>Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание сотрудника, должность, шифр специальности, составившего отзыв ведущей организации</p>	<p>Потапов Александр Сергеевич  Доктор медицинских наук  Профессор  Специальность –3.1.21. Педиатрия  Начальник Центра воспалительных забоелваний кишечника у детей, заведующий гастроэнтерологическим отделением</p>
<p>Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание сотрудника, должность, шифр специальности, составившего отзыв ведущей организации</p>	<p>Савостьянов Кирилл Викторович  Доктор биологических наук  Специальность –1.5.7. Генетика  Начальник медико-генетического Центра, заведующий лабораторией медицинской геномики</p>
<p>Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Усольцева, О. В., Мовсисян, Г. Б., <b>Потапов, А. С.</b>, Кулебина, Е. А., Куликов, К. А., Черников В. В. Связь воспалительных заболеваний кишечника с выраженностью поражения печени при аутоиммунной гепатобилиарной патологии: одномоментное исследование. // <b>Вопросы современной педиатрии.</b> –2022. – №2. –С. 105-112</li> <li>2. Курбатова О.В., Купцова Д.Г., Безрукавникова Л.М., <b>Потапов А.С.</b> Особенности иммунного статуса у детей с болезнью Вильсона–Коновалова при разных стадиях фиброза печени // Российский иммунологический журнал. - 2022. - Т. 25. - №4. - С. 453-460.</li> <li>3. Усольцева О.В., <b>Потапов А.С.</b>, Мовсисян Г.Б., Черников В.В. Ассоциация аутоиммунной гепатобилиарной патологии с воспалительными заболеваниями кишечника у детей //Российский педиатрический журнал. - 2022.- Т. 25. - №2. - С. 106–115.</li> <li>4. Кулебина Е.А., Куликов К.А., <b>Потапов А.С.</b>, Бессонов Е.Е. Валидация показателей транзиентной эластографии для оценки стадии фиброза печени у детей. //Лечащий Врач. - 2020. - №8. - С. 57–60.</li> <li>5. Рославцева Е.А., Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Кулебина Е.А., <b>Потапов А.С.</b>, <b>Савостьянов К.В.</b>, Пушкин А.А. Опыт применения специализированного продукта на основе 100% масла среднецепочечных триглицеридов в диетотерапии ребенка с дефицитом 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с длинной углеродной цепью. // <b>Экспериментальная и клиническая</b></li> </ol>

гастроэнтерология. - 2021. - №2. - С. 106-113.

6. Кулебина Е. А., Усольцева О. В. Неинвазивная диагностика фиброза печени: возможности инструментальных методик на современном этапе // **РМЖ. Медицинское обозрение.** – 2020. – Т. 4. – №. 5. – С. 297-301.

7. Волынец, Г. В., **Потапов, А. С.**, Геворкян, А. К., Смирнов, И. Е., Никитин, А. В., Скворцова, Т. А. Пошаговая диагностика синдрома Алажилля у детей // **Российский педиатрический журнал.** – 2016. - №19(5). С. 268-274.

8. Никитин, А. В., Волынец, Г. В., Смирнов, И. Е., Скворцова, Т. А., **Потапов, А. С.**, Комарова, Н. Л., Фролова, К. А. Дифференциальная диагностика различных типов внутриспеченочного холестаза у детей с хроническими болезнями печени // **Российский педиатрический журнал.** - 2016. - №19(3). С. 144-150.

9. Полякова, С. И., **Савостьянов, К. В.**, Пушков, А. А. Наследственная тирозинемия 1-го типа: что нужно знать педиатрам // **Практика педиатра.** – 2016. - №1. С. 4-16.

#### Адрес ведущей организации

Индекс 119296  
Объект ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России  
Город Москва  
Улица Ломоносовский проспект  
Дом д.2, стр. 1  
Телефон 8 (495) 967-14-20  
e-mail director@nczd.ru  
Web-сайт <https://nczd.ru/>

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»

Минздрава России, Заслуженный врач РФ

доктор медицинских наук, профессор

Фисенко А.П.



« 05 » августа 2024 г.