

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.025.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ,
ОНКОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОГАЧЕВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 24 сентября 2024 года № 10

О присуждении Докшукиной Алине Алексеевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21 – Педиатрия и 1.5.7 – Генетика.

Диссертация «Оптимизация диагностики моногенных заболеваний, проявляющихся холестазом в период новорожденности», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21 – Педиатрия и 1.5.7 – Генетика в виде рукописи принята к защите 26 июня 2024 года (протокол №7) диссертационным советом 21.1.025.01 (Д 208.050.02), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГСП-7, 117997, г. Москва, улица Саморы Машела, д. 1) приказ Минобрнауки от 24 мая 2017 г. №508/нк (приказ от 24 сентября 2021 г. №974/нк , от 07 декабря 2022 № 1700/нк об изменении состава, №680/нк от 09 июля 2024).

Соискатель Докшукина Алина Алексеевна, 1993 года рождения, окончила лечебное отделение Факультета фундаментальной медицины

Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова в 2017 году.

С 2017 года по 2020 год обучалась в клинической ординатуре на кафедре неонатологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ. В 2022 году прошла курсы профессиональной переподготовки и подтвердила сертификат по специальности «Генетика» на базе кафедры медицинской ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования.

В настоящее время работает врачом-неонатологом, врачом-генетиком, младшим научным сотрудником ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ.

Научные руководители:

Дегтярева Анна Владимировна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом педиатрии института неонатологии и педиатрии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ.

Шубина Екатерина - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией анализа геномных данных Института репродуктивной генетики ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ.

Официальные оппоненты:

Сурков Андрей Николаевич – доктор медицинских наук; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр

хирургии имени академика Б.В. Петровского», заведующий отделением гастроэнтерологии для детей Научно-клинического центра № 2 Научно-исследовательского института педиатрии и охраны здоровья детей;

Семенова Наталия Александровна – кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», ведущий научный сотрудник, врач-генетик.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. В отзывах указано, что диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в рамках которой рассмотрены важные научные проблемы, актуальные для педиатрии и медицинской генетики. Оппонентами отмечен высокий уровень проведенного диссертационного исследования, в основе которого лежит научно-обоснованный дизайн, который предполагает поэтапное решение поставленных задач для достижения единой научной цели. Оппонентами отмечена важность проведенного исследования для педиатрической практики, так как на сегодняшний день нет общепринятого алгоритма дифференциальной диагностики наследственных заболеваний, сопровождающихся неонатальным холестазом. Отмечено, что в ходе работы автором были подробно рассмотрены особенности патогенеза различных редких моногенных форм неонатального холестаза, гено-фенотипические корреляции, клинико-лабораторные и инструментальные особенности, характерные для каждой из групп нозологий у детей первых трех месяцев жизни.

Кроме этого автором проведен комплексный анализ клинико-лабораторных и инструментальных данных, включающий современные молекулярно-генетические методы, такие как полноэкзомное и полногеномное секвенирование, что позволило выявить новые генетические маркеры и патогенетические механизмы развития неонатального холестаза.

В отзывах оппонентов указано, что результаты диссертации основаны на собственном репрезентативном уникальном материале. Впервые предложены рекомендации по оптимизации диагностического алгоритма, которые включают использование многоступенчатого подхода, сочетающего клинические наблюдения, биохимические тесты и молекулярно-генетический анализ, что позволяет повысить точность и скорость диагностики, улучшая прогноз и качество жизни пациентов. Таким образом, данная работа представляет собой значительный вклад в педиатрическую практику, предлагая практические решения для улучшения диагностики и лечения детей с неонатальным холестазом. Достоверность полученных результатов подтверждена публикациями в рецензируемых научных изданиях и обеспечена достаточной выборкой пациентов, а также определением адекватных критериев для анализа и применением современных методов статистической обработки. Практические рекомендации обоснованы и четко сформулированы. Результаты работы имеют несомненный научный и практический интерес.

Отмечено, что по своей актуальности, новизне и научно-практической значимости диссертационная работа полностью соответствует критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями и дополнениями) «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что официальный оппонент, доктор медицинских наук, Сурков Андрей Николаевич – один из ведущих специалистов в области детской гастроэнтерологии и болезней гепатобилиарной системы, является заведующим отделением гастроэнтерологии, заведующий отделом научных основ детской гастроэнтерологии, гепатологии и метаболических нарушений НИИ

педиатрии и охраны здоровья детей Научно-клинического центра №2 ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», ведет научную работу и имеет большое количество публикаций, в том числе в области детской гепатологии. Официальный оппонент, кандидат медицинских наук Семенова Наталия Александровна, является ведущим специалистом в области наследственных болезней печени, ведущим научным сотрудником, врачом-генетиком Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», имеет большой опыт в организации и проведении исследований, а также написании научных статей, близких к теме защищаемой диссертации. Официальные оппоненты дали свое письменное согласие.

Ведущая организация - Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» в своём положительном отзыве, составленном доктором медицинских наук, профессором Потаповым Александром Сергеевичем, начальником центра воспалительных заболеваний кишечника у детей, заведующим гастроэнтерологическим отделением ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и доктором биологических наук Савостьяновым Кириллом Викторовичем, заведующим лабораторией медицинской геномики ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России отметила: 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 замечаний, 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. Особое внимание уделено

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

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 холестазом»), 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 холестазом, 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 значимо 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 с. 696T>C гена ATR8B1. 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.

Таким образом, диссертационная работа Докшукиной Алины Алексеевны по своей актуальности, новизне и научно-практической значимости соответствует критериям, удовлетворяющим требования пунктов 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации) «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Отзыв утверждён директором Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, доктором медицинских наук, Заслуженным врачом РФ, профессором Фисенко А.П.

Выбор ведущей организации обосновывается тем, что Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» известно своими исследованиями и публикациями в области детской гастроэнтерологии.

Автором опубликовано 5 научных работ, из них 4 в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований. Авторский вклад 89%.

Научные работы по теме диссертации:

1. Докшукина, А. А. Основные принципы нутритивной поддержки детей раннего возраста с синдромом холестаза / А. В. Дегтярева, А.А. Докшукина, М. Б. Албегова // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2022. – Т. 10, № 2 (36). – С. 29–37.

2. Докшукина, А. А. Ультразвуковая картина гепатобилиарной системы, почек и сердца у ребенка с синдромом Алажилля (клиническое наблюдение) / Е. А. Филиппова, А. Б. Сугак, А. В. Дегтярева, А. А. Докшукина, М. И. Пыков, М. Б. Албегова, А. А. Пучкова // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2021. – Т. 2. – С. 10.

3. Докшукина, А. А. Мараликсибат-альтернатива трансплантации печени у детей с синдромом Алажилля / А. В. Дегтярев, Е. И. Савельева, Е. А., Филиппова, А. А. Докшукина, М. Х. Исаева, В. В. Зубков, М. Б. Албегова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2022. – Т. 67, № 6. – С. 123–130.

4. Докшукина, А. А. Ранние клиничко-лабораторные и инструментальные характеристики синдрома Алажилля / А. В. Дегтярева, А. А. Докшукина, М. С. Готье, Е. А. Филиппова, Е. Л. Туманова, Е. Ю., Захарова, М. Б. Албегова, С. И. Жданова, А. А. Пучкова, М. Х. Исаева, Е. Шубина, Е. А. Гусарова // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2024. – Т. 12, № 1. – С. 27–36.

5. Dokshukina A. Newly described mutations of the *UNC45A* gene in infant with jaundice and pruritus/ A. Degtyareva, A. Dokshukina, E. Filippova, Je. Shubina, E. Tolmacheva, I.Sadelov, M. Albegova, D. Degtyarev // Current Pediatric Reviews. – 2024. – V. 20. – P. 1-8.

На автореферат диссертации поступили отзывы:

Чундовой Мадины Арсеновны - доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры детской хирургии имени академика Ю.Ф. Исакова ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Каретниковой Натальи Александровны - доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника, врача-генетика отделения клинической

генетики института репродуктивной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

Спарбера Петра Андреевича – кандидата медицинских наук, научного сотрудника лаборатории функциональной геномики, врача-генетика ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

Отзывы положительные, без критических замечаний. В отзывах отмечена актуальность выбранной темы, обоснованность сформулированных выводов и рекомендаций, подчеркнута важное научно-практическое значение полученных результатов. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **показано**, что при синдроме Алажилля у 21,4% детей выявлено менее 3 классических клинических критериев, необходимых для постановки клинического диагноза, и только у 10% детей - все критерии, что затрудняло дифференциальную диагностику с билиарной атрезией в первые 3 месяца жизни.
- **показано**, что у 13-31% пациентов с различными моногенными формами неонатального холестаза отмечались клинические и ультразвуковые признаки билиарной атрезии.
- **установлено**, что в первые 3 месяца жизни холестаз при прогрессирующем семейном внутрипеченочном холестазе 1-го и 2-го типов сопровождался кожным зудом у 67% детей наряду с нормальным сывороточным уровнем ГГТ, холестерина и повышением уровня желчных кислот.
- **отмечено**, что специфические лабораторные маркеры выявлены только при 21,4% других редких моногенных форм холестаза: болезнь Ниманна-

Пика тип С, синдром Цельвегера, врожденное нарушение синтеза желчных кислот.

- **доказано**, что наличие ЗВУР более характерно для детей с синдромом Алажилля, чем для прогрессирующего семейного внутрипеченочного холестаза 1-го и 2-го типов и дефицита альфа-1-антитрипсина; кожный зуд в первые 3 месяца жизни более характерен для детей с прогрессирующим семейным внутрипеченочным холестазом 1 и 2 типов; при синдроме Алажилля чаще отмечались аномалии строения и формы желчного пузыря и пороки и аномалии со стороны других органов, в отличие от прогрессирующего семейного внутрипеченочного холестаза 1 и 2 типов и дефицита альфа-1-антитрипсина.
- **определено**, что доля выявленных моногенных заболеваний с неонатальным холестазом при секвенировании полного экзона была значимо выше, чем при секвенировании панели генов (25% против 9%).
- **выявлено**, что у 2% пациентов с клиническими критериями синдрома Алажилля отсутствовали патогенные и вероятно-патогенные варианты при полноэкзомном секвенировании. Диагноз был установлен при проведении хромосомного микроматричного анализа, выявившего делецию 20p12.2.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- у пациентов в подтвержденными моногенными заболеваниями с неонатальным холестазом детально **описаны** клинико-лабораторные и инструментальные характеристики в первые 3 месяца жизни
- **представлены** редкие и орфанные заболевания, сопровождающиеся холестазом в периоде новорожденности с описанием патогенеза и характерных клинических проявлений

- **проведено** сравнение ключевых клинико-лабораторных и инструментальных параметров в разных нозологических группах детей с неонатальным холестазом

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **Оптимизирован** и внедрен в клиническую практику алгоритм дифференциальной диагностики моногенных заболеваний, сопровождающихся неонатальным холестазом
- **Предложен** план обследования детей в первые 3 месяца жизни с недифференцированным синдромом холестаза
- **Определена** доля пациентов с моногенными заболеваниями, для которых характерен клинико-лабораторный и инструментальный симптомокомплекс билиарной атрезии в первые 3 месяца жизни
- **Определены** ключевые лабораторные показатели, исследование которых необходимо для первого этапа дифференциальной диагностики моногенных заболеваний с неонатальным холестазом
- **установлено**, что у детей с неонатальным холестазом в качестве метода выбора первой линии при молекулярно-генетическом обследовании необходимо проводить полноэкзомное секвенирование.
- **показано**, что при наличии клинико-лабораторных и инструментальных показателей, характерных для синдрома Алажилля наряду с отсутствием вероятно-патогенных и патогенных вариантов при полноэкзомном секвенировании, необходимо проводить хромосомный микроматричный анализ.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- теория построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными независимыми данными по теме диссертации;
- использовано сравнение результатов, полученных автором в процессе диссертационного исследования и результатов, представленных ранее в работах, посвященных изучению ранней дифференциальной диагностики моногенных заболеваний с неонатальным холестазом;
- установлена взаимосвязь авторских и литературных данных по рассматриваемой тематике, а также их взаимодополняемость;
- использованы современные методы статистической обработки полученных данных, позволившие выполнить и представить результаты исследования на высоком научном и методическом уровне.

Личный вклад соискателя состоит в формировании цели и задач работы, разработке дизайна диссертационной работы, ретроспективном пересмотре всех медицинских карт пациентов, сборе клинико-анамнестических данных, статистической обработке и анализе полученных результатов исследования, подготовке публикаций по выполненной работе и представлении результатов исследования на научных конгрессах и конференциях.

Соискатель Докшукина Алина Алексеевна аргументированно ответила на все задаваемые в ходе заседания вопросы. В ходе дискуссии не возникло вопросов о высокой значимости, актуальности и новизне работы.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критерию внутреннего единства, что - подтверждается сформулированными обоснованными выводами, логично вытекающими из полученных результатов.

