

ОТЗЫВ

официального оппонента

профессора кафедры госпитальной педиатрии им. академика В.А. Таболина педиатрического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Чугуновой Ольги Леонидовны на диссертацию Барыгиной Лилии Анасовны на тему: «Клинико-диагностическое и прогностическое значение эндотелиальной дисфункции и уровня серотонина у детей с гемолитико-уремическим синдромом», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия

Актуальность выполненного исследования

Представленная работа Барыгиной Л.А. посвящена актуальной проблеме педиатрии и медицины в целом – развитию гемолитико-уремического синдрома (ГУС), являющегося одним из ведущих причин ренального острого повреждения почек (ОПП) у детей с возможным формированием терминальной хронической болезни почек (ХБП). Вопросам патогенеза снижения функции почек у детей с ГУС и прогрессирования почечной недостаточности, а также влиянию эндотелиальной дисфункции и уровня серотонина на происходящие процессы и посвящена данная работа. Согласно данным литературы, в первые 10 лет после перенесенной шигатоксин ассоциированной формы ГУС в 30% случаев отмечается развитие ХБП. Позднее этот процент может возрасти до 60%. Многие современные исследования сосредоточены на поиске предикторов неблагоприятного исхода ГУС, однако однозначных результатов по данной проблеме не получено. В настоящее время важная роль отводится ранней диагностике и замедлению прогрессирования повреждения почек после перенесенного ГУСа у детей, что и определяет актуальность представляемой работы, посвященной разработке новых диагностических подходов с использованием

комплексного исследования маркеров эндотелиальной дисфункции и показателей серотонинергической системы.

Научная новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Барыгина Лилия Анасовна впервые доказала, что высокие значения эндотелина-1 (ЭТ-1), а также сохраняющиеся высокие значения серотонина (5-НТ) и 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в плазме крови, являются предикторами формирования и прогрессирования хронической болезни почек у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Выявлено, что острая стадия ГУС сопровождается повышением уровня серотонина и 5-ГИУК в плазме крови и снижением содержания 5-НТ в тромбоцитах. Показано, что отношение 5-ГИУК/5-НТ, отражающее активность метаболизма серотонина, значительно снижено у пациентов с ГУС.

Установлена статистически значимая прямая корреляция 5-НТ в плазме крови с систолическим артериальным давлением (САД); 5-НТ в тромбоцитах со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ); соотношения 5-ГИУК/5-НТ с аланинаминотрансферазой (АЛТ) и креатинином, обратная связь с СКФ. Выявлена статистически значимая обратная корреляция ЭТ-1 с СКФ, прямая корреляция с креатинином и АЛТ; прямая корреляция оксида азота (NO) с СКФ.

Установлено, что повышенные значения толщины задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), массы миокарда левого желудочка (ММЛЖ) и индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), характеризующие гипертрофические процессы миокарда левого желудочка, определяются уже на ранних стадиях развития ХБП.

Автором разработаны математические модели, позволяющие на ранних стадиях ГУС у детей прогнозировать развитие ХБП и структурно-функциональных изменений со стороны сердечно-сосудистой системы.

Полученные данные являются новыми в плане установления клинико-диагностического и прогностического значения эндотелиальной дисфункции и уровня серотонина у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Представленные таблицы и рисунки наглядно подтверждают результаты исследования, выводы и практические рекомендации.

Автором получено свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ «ХБП.НЕТ» и патент на изобретение «Способ прогнозирования развития риска и прогрессирования хронической болезни почек у детей с типичной формой гемолитико-уремического синдрома».

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором диссертационной работы сформулирована цель исследования, направленную на определение клинико-диагностического и прогностического значения эндотелиальной дисфункции, уровня серотонина и его метаболита у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Достижению цели исследования способствуют четко сформулированные задачи исследования. Для решения поставленных задач использованы современные методы обследования и статистическая обработка данных. Положения, выводы и практические рекомендации, представленные Барыгиной Л.А. в диссертации, основаны на достаточном количестве исследований: проводился ретроспективный анализ 89 историй болезней детей с ГУС в возрасте от 2 до 17 лет, а также проспективное исследование, включающее 31 ребенка с ГУС, которые обследованы в остром периоде заболевания, при выписке и через 1 год после перенесенного ГУС. Проведены специальные методы исследования детям реконвалесцентам-ГУС с исходом в ХБП из ретроспективной группы исследуемых (n=43) и всем детям с ГУС проспективной группы (n=31). Контрольную группу составили 26 условно здоровых ребенка, сопоставимых по возрасту и полу. Полученные результаты исследования указывают на высокую научную и практическую значимость работы.

Основные положения диссертации отражены в 11 публикациях, в том числе в 5 статьях в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 3 из которых входит в международную

базу цитирования данных SCOPUS, зарегистрирована программа для ЭВМ «ХБП.НЕТ» и патент на изобретение «Способ прогнозирования развития риска и прогрессирования хронической болезни почек у детей с типичной формой гемолитико-уремического синдрома». Материалы диссертационного исследования широко обсуждены на научно-практических конференциях Всероссийского и международного уровней.

**Значимость для науки и практики результатов диссертации,
возможные конкретные пути их использования**

Результаты диссертационной работы Барыгиной Лилии Анасовны имеют высокую значимость для практического применения. На основании данных, полученных при всестороннем обследовании детей в остром периоде ГУС и наблюдении в катамнезе, была разработана тактика ведения детей, перенесших типичный ГУС, для оценки прогрессирования повреждения почек и замедлению нарушения функции почек.

Автором была разработана формула, представленная в патенте на изобретение №2797633 «Способ прогнозирования развития риска и прогрессирования хронической болезни почек у детей с типичной формой гемолитико-уремического синдрома», позволяющая более точно прогнозировать риск развития ХБП у детей с ГУС, на основании комплексного обследования пациентов с ГУС с оценкой содержания серотонина в плазме крови, тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови, с подсчетом риска развития ХБП.

Всем детям после перенесенного ГУС с частотой не реже 1 раза в год рекомендован неинвазивный метод прогноза риска прогрессирования ХБП с определением уровня 5-ГИУК в суточной моче, а также проведение динамического эхокардиографического обследования с определением индекса массы миокарда левого желудочка, при выявлении которого более 95 перцентиля следует выделять группу высокого риска по развитию гипертрофии миокарда левого желудочка.

Результаты работы используются в практической деятельности лечебных учреждений, внедрены в лечебно-диагностическую работу нефрологического отделения ГАУЗ «ДРКБ МЗ РТ» и учебный процесс

кафедры госпитальной педиатрии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Разработан веб-сервис «ХБП.NET» (<http://hbp.net.ru/>), позволяющий оценить риск развития хронической болезни почек у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Конкретные пути использования результатов исследования планируются в области педиатрии, нефрологии, а также при обучении студентов, ординаторов и аспирантов в медицинских ВУЗах и врачей на кафедрах последипломного образования.

Оценка содержания диссертации

Диссертация написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения и обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы и библиографического указателя, включающего 257 источника, из которых 54 отечественных и 203 зарубежных. Работа иллюстрирована 28 таблицами и 27 рисунками.

Во введении Барыгина Л.А. представляет актуальность темы, ставит цель и задачи, указывает степень разработанности темы научного исследования.

В главе «Обзор литературы» автор стилистически грамотно описывает современные представления о гемолитико-уремическом синдроме у детей, а также - о роли эндотелиальной дисфункции и серотонинергической системы в формировании и прогрессировании ГУСа у детей. Обзор написан хорошим литературным языком, тема раскрыта.

В главе «Материалы и методы исследования» диссертант представила проведенное ретроспективное и проспективное исследование. Ретроспективно был проведен анализ 89 историй болезни детей с ГУС в возрасте от 2 до 17 лет, из них в исследовании участвовали 43 ребенка с ХБП на фоне ГУС. Проспективно обследован 31 пациент, из них 11 детей с признаками ХБП на фоне ГУС, 20 детей с благоприятным исходом. Следовательно, в исследование было включено 120 пациентов с ГУС, ассоциированным с шига-токсин-продуцирующей E. Coli,

госпитализированных в нефрологическое и реанимационное отделения ГАУЗ «ДРКБ МЗ РТ» с 2006 по 2022 год. Отдельно выполнено обследование 26 условно здоровых детей, составивших контрольную группу. Подробно дана характеристика детей основной группы, определены критерии включения и исключения.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации, осуществлялось на всех этапах работы. Барыгина Л.А. составляла дизайн и программу исследований, полное клиническое обследование детей с ГУС, их проспективное наблюдение, взятие материала для лабораторной диагностики. Результаты основаны на достаточном материале. Статистический анализ проведен с использованием программы StatTech v. 2.8.8 (ООО "Статтех", Россия). Статистическая обработка включала параметрические и непараметрические методы. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых.

В главе, посвященной обсуждению собственных результатов, автором представлены данные о выявленных случаях ГУС среди детского населения Республики Татарстан. Шансы исхода ГУС в ХБП в группе мальчиков были выше в 4,2 раза, по сравнению с девочками, различия шансов были статистически значимыми (95% ДИ: 1,59 – 11,36). При сравнении характера течения продромального периода гемолитико-уремического синдрома у детей в сравниваемых группах установлено, что развитие ХБП свойственно для детей с ГУС без диареи ($p = 0,012$). Для пациентов с исходом в ХБП было характерно статистически значимое увеличение уровней АЛТ и АСТ по сравнению с группой детей с ГУС без ХБП ($p = 0,019$ и $p = 0,03$, соответственно) и статистически значимое длительное повышение уровня ЛДГ 30 ± 9 дней, тогда как у детей с ГУС без ХБП 18 ± 6 дней ($p = 0,016$). Для детей с ГУС без ХБП была характерна анурия длительностью 6 (4; 10) дней, тогда как у детей с ХБП 14 (9; 20) дней ($p = 0,025$). Артериальная гипертензия является неиммунным механизмом прогрессирования заболеваний почек любого генеза. По данным Барыгиной Л.А. у 46 (65,7%)

детей с артериальной гипертензией развивалась ХБП. Сохраняющуюся протеинурию можно рассматривать как один из предикторов развития ХБП после перенесенного ГУС. В результате наблюдения детей после перенесенного ГУС в динамике автором работы установлено, что у 54 (45%) детей ХБП была диагностирована, в среднем, через 2 года 9 мес.: в первый год после дебюта ГУС хроническая болезнь почек развилась у 33 (27,5%) детей, у 12 (10%) детей в течение 2-5 лет, у 9 детей ХБП была диагностирована через 7-10 лет. Барыгиной Л.А. в результате проводимого исследования были получены данные, что у детей с ГУС с формированием ХБП значения эндотелина-1 (ЭТ-1) и оксида азота в сыворотке крови были статистически значимо выше по сравнению с группой детей без формирования ХБП ($p < 0,05$). Также установлено, что дисфункция эндотелия развивается с ранних стадий ХБП и характеризуется постепенным нарастанием по мере прогрессирования стадий ХБП. Автором представлены убедительные данные, что в качестве одного из маркеров неблагоприятного прогноза ГУС в виде выхода на ХБП можно рассматривать сохраняющиеся высокие уровни эндотелина-1 в сыворотке крови. При увеличении показателя эндотелина-1 на 0,1 пмоль/мл следует ожидать увеличение содержания креатинина в сыворотке крови на 25,85 мкмоль/мл и повышения концентрации мочевины на 1,88 ммоль/л. Согласно представленной работе, по мере прогрессирования стадий ХБП у детей после перенесенного ГУС было отмечено повышение уровня ЭТ-1 в сыворотке крови, постепенное снижение как концентрации оксида азота (NO), так и соотношения NO/ЭТ-1 с минимальными значениями в V стадии ХБП, что подтверждает прогностическое значение вазоконстрикции на всех этапах формирования нефросклероза. Барыгиной Л.А. было выявлено статистически значимое повышение содержания серотонина в плазме крови у детей с ГУС, на фоне которого сформировалась хроническая болезнь почек, как в острый период повреждения почек, так и через год после перенесенного заболевания, по сравнению с группой пациентов без формирования ХБП ($p < 0,05$). Напротив, на острооте ГУС и через год наблюдения у пациентов, сформировавших ХБП,

сохранялись очень низкие значения серотонина в тромбоцитах в отличие от детей без ХБП ($p = 0,005$ и $p = 0,02$, соответственно).

Одним их основных итогов работы было осуществление прогнозирования риска прогрессирования ХБП при наблюдении детей после перенесенного ГУС с помощью неинвазивной методики определения концентрации 5-гидроксииндолуксусной кислоты в суточной моче, так как содержание 5-ГИУК в моче используется в качестве косвенного показателя уровня серотонина в плазме крови. Высокий уровень 5-ГИУК является показателем прогрессирования поражения почек. Автором установлено, что максимальные значения 5-ГИУК в суточной моче были зарегистрированы у детей после перенесенного гемолитико-уремического синдрома с ХБП III стадии $17,09$ мг/сут. Применение метода парной линейной регрессии позволило рассчитать, что при увеличении показателя 5-ГИУК в плазме крови на 1 пмоль/мл следует ожидать уменьшение скорости клубочковой фильтрации на $0,013$ мл/мин/ $1,73$ м². Барыгиной Л.А. было установлено отсутствие зависимости уровня серотонина в плазме крови, тромбоцитах и 5-ГИУК в плазме крови от применения заместительной почечной терапии (ЗПТ).

На основании полученных результатов автором была разработана прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии с целью определения вероятности развития ХБП у детей с ГУС в зависимости от содержания серотонина в плазме крови и тромбоцитах, концентрации 5-ГИУК в плазме крови и их соотношения. Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p = 0,015$). Проведенное исследование позволило сделать вывод, что серотонин и 5-ГИУК в плазме крови, оксид азота и эндотелин-1 в сыворотке крови являются патогенетическими маркерами поражения почек у детей с ГУС, а также кофакторами в формировании и прогрессировании ХБП. Локальная активация тромбоцитов в местах эндотелиальной дисфункции способствует повреждению сосудов, в том числе за счет высвобождения вазоактивных факторов, включая серотонин.

В ходе исследования Барыгиной Л.А. были получены данные, свидетельствующие о том, что развитие патологических изменений миокарда, размеров сердечных полостей и толщины стенок, наблюдается уже на ранних стадиях формирования ХБП и увеличивается по мере прогрессирования хронической болезни почек.

Результаты исследования проиллюстрированы таблицами и рисунками.

Заключение представляет сравнение полученных результатов с литературными данными, содержит ответы на поставленные вопросы. Выводы логичны, полностью отражают результаты работы и соответствуют поставленным цели и задачам.

Автореферат и опубликованные работы полностью передают содержание проведенного исследования и его результаты.

Принципиальных замечаний нет.

В рамках дискуссии автору предлагается ответить на следующие вопросы:

1. Какие Вы предлагаете методы коррекции эндотелиальной дисфункции, выявленной у детей с ГУС, в плане снижения риска формирования ХБП?
2. Согласно Вашим данным, шансы исхода гемолитико-уремического синдрома в хроническую болезнь почек в группе мальчиков были выше в 4,2 раза, по сравнению с девочками. С чем это может быть связано?

Заключение о соответствии диссертации критериям

«Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертационная работа Барыгиной Лилии Анасовны на тему: «Клинико-диагностическое и прогностическое значение эндотелиальной дисфункции и уровня серотонина у детей с гемолитико-уремическим синдромом», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Макаровой Тамары Петровны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной педиатрии, а именно оптимизация тактики ведения детей, перенесших

типичный ГУС, для оценки прогрессирования хронической болезни почек и замедления снижения функции почек на основании определения клинко-диагностического и прогностического значения эндотелиальной дисфункции, уровня серотонина и его метаболита у детей с ГУС.

Диссертационная работа Барыгиной Л.А. на тему: «Клинко-диагностическое и прогностическое значение эндотелиальной дисфункции и уровня серотонина у детей с гемолитико-уремическим синдромом» по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции Постановления Правительства РФ от 25.01.2024 г. №62), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Барыгина Лилия Анасовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия.

Официальный оппонент

профессор кафедры госпитальной педиатрии

им. академика В.А. Таболина педиатрического факультета

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор  Чугунова Ольга Леонидовна


«13» мая 2024г.

Подпись профессора Чугуновой О.Л. заверяю:

Ученый секретарь

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России

кандидат медицинских наук, доцент

 Демина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России). Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1, тел.: +7(495) 434-14-22, +7 (495) 434-03-29, эл. почта: rsmu@rsmu.ru