

ВІДГУК

**офіційного опонента члена-кореспондента НАМН України,
д. мед. н, професора Шунько Єлизавети Євгеніївни на дисертаційну
роботу Мазулова Олександра Васильовича «Патогенетична роль
сурфактантного протеїну В у формуванні бронхолегеневої дисплазії у
дітей», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія.**

Актуальність

Патологія бронхолегеневої системи у дітей займає провідне місце в структурі захворювань дітей раннього віку. В формуванні бронхолегеневих захворювань важливе значення мають передчасне народження дітей, патологія перинатального періоду, вроджені вади розвитку системи дихання, застосування сучасних технологій інтенсивної терапії, фактори генетики, спосіб життя родини. Передчасно народжені діти мають морфо-функціональну незрілість органів та систем, зокрема легень, бронхів та сурфактантної системи. Крім незрілості на постнатальний розвиток дитини впливають пошкоджуючі фактори інтенсивної терапії, зокрема штучної вентиляції легень, незбалансованого парентерального харчування, нозокоміальної інфекції тощо.

Відомо, що для фізіологічної функції бронхолегеневої системи важливе значення має система сурфактанту. Сурфактант – біологічно поверхнево-активна речовина, яка забезпечує функцію альвеол, антиінфекційний та антиоксидантний захист легень. До складу сурфактанту входять фосфоліпіди (90%) та сурфактантасоційовані протеїни SP-A, SP-B, SP-C, SP-D (10%), які підтримують структуру сурфактанту та адекватну легеневу механіку, захист легень від інфекцій. Вплив несприятливих факторів перинатального періоду порушує розвиток легень та призводить до формування бронхолегеневої дисплазії, коли дитина потребує постійного медичного спостереження. Бронхолегенева дисплазія значно погіршує якість життя дитини та її родини.

Дисертаційна робота Мазулова Олександра Васильовича присвячена питанням патогенезу формування бронхолегеневих захворювань та їх прогнозуванню у новонароджених та дітей раннього віку. Таким чином, тема дисертаційної роботи Мазулова Олександра Васильовича актуальна, має важливе наукове та практичне значення для покращення здоров'я дітей раннього віку.

Мета дослідження встановити патогенетичну роль сурфактантного протеїну В та його генного поліморфізму у формуванні бронхолегеневої патології у дітей.

Серед завдань дослідження зазначено визначення чинників ризику формування бронхолегеневої патології у дітей, встановлення клінічних особливостей перебігу неонатального періоду у дітей, які народились передчасно, визначення вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові дітей та оцінка зв'язку вмісту сурфактантного протеїну В з захворюваннями бронхолегеневої системи у дітей, його діагностичну і прогностичну цінність. Також завданням дослідження було визначення ролі генного поліморфізму сурфактантного протеїну В С1580Т як предиктора формування захворювань бронхолегеневої системи та проведення катамнестичного спостереження за дітьми основної групи впродовж перших 5 років життя.

2. Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами.

Робота виконана на кафедрі педіатрії №1 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і була фрагментом науково-дослідної роботи «Патогенетична роль порушень метаболізму у формуванні патології новонароджених та дітей раннього віку» (державний реєстраційний № 0109U005503).

3. Наукова новизна одержаних результатів дослідження. На основі даних ретроспективного дослідження, вперше показано, що найбільш прогностично несприятливим є поєднання передчасного народження та впливу респіраторної підтримки в неонатальному періоді: у віці 5 років 11,5 % таких дітей мали бронхолегеневу дисплазію, 13,1 % хворіли на бронхіальну астму, 34,3 % мали часті гострі захворювання органів дихання. Встановлено діагностичне значення визначення в крові сурфактантного протеїну В як біомаркера пошкодження легень. Доведено наявність прямого кореляційного зв'язку між вмістом сурфактантного протеїну В у сироватці крові та тривалістю оксигенотерапії. ROC-аналіз показав високу діагностичну значимість вмісту сурфактантного протеїну В у неонатальному періоді для прогнозування формування бронхолегеневої патології у віці 5 років.

За результатами катамнестичного спостереження встановлено, що найвищий вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові в неонатальному періоді мали діти з встановленим діагнозом бронхолегенева дисплазія, у пацієнтів з повторними епізодами обструктивних бронхітів цей показник приблизно в 5 разів перевищував вміст його у здорових дітей.

Доповнено наукові дані щодо генетичних особливостей поліморфної ділянки сурфактантного протеїну В *C1580T*: послідовність нуклеотидів СТ в поліморфній ділянці гену діагностовано у 42,0 % дітей, послідовність СС - у 34,0 % дітей, ТТ - у 24,0 % пацієнтів.

4. Теоретичне значення результатів дослідження.

Встановлено достовірно вищий вміст сурфактантного протеїну В в сироватці крові передчасно народжених дітей з респіраторним дистес-синдромом, вродженою пневмонією, які перебували на штучній вентиляції легень, в порівнянні з аналогічним показником у здорових новонароджених. Найвищий вміст сурфактантного протеїну В в сироватці крові мали передчасно народжені діти з РДС в неонатальному періоді, у яких в

подальшому сформувалась БЛД, що майже у 7 разів перевищувало показник дітей групи порівняння, у дітей з неускладненим РДС вміст сурфактантного протеїну В був у 5 разів вищим. Новонароджені, які хворіли на вроджену пневмонію, демонстрували показник сурфактантного протеїну В, що у 3 рази перевищував показник групи порівняння. Отримані результати підтверджують діагностичне та прогностичне значення сурфактантного протеїну В як маркера формування захворювань бронхолегеневої системи. Встановлено високу діагностичну значимість вмісту сурфактантного протеїну В в неонатальному періоді для прогнозування формування бронхолегеневої патології у віці 5 років.

Встановлено, що поліморфізм СС С1580Т зустрічається в 3 рази частіше у дітей, які в подальшому мають повторні епізоди обструктивних бронхітів ($p=0.04426$), поліморфізм ТТ С1580Т зустрічається в 6 разів частіше у дітей, в яких в подальшому було діагностовано бронхіальну астму ($p=0.05487$). Генотип СТ є протективним щодо розвитку вродженої пневмонії (OR 0,1491 [0.0291 - 0.7640 95% ДІ], $p=0.0224$).

5. Практичне значення результатів дослідження.

Отримані результати дозволять використовувати показники вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові в неонатальному періоді та генного поліморфізму сурфактантного протеїну В у якості предикторів виникнення бронхолегеневої патології у дітей в старшому віці. Включення до плану обстеження передчасно народжених дітей, які в неонатальному періоді потребують застосування ШВЛ, дослідження вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові дозволить прогнозувати формування бронхолегеневої патології у дошкільному віці. Генетичне дослідження поліморфної ділянки сурфактантного протеїну В С1580Т дозволить визначити ризик виникнення ураження бронхолегеневої системи чи відсутності захворювань легень в подальшому.

6. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

В дисертаційній роботі Мазулова О.В. представлено результати ретроспективного аналізу історій хвороб 657 дітей, які знаходились на лікуванні в неонатологічному центрі Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні в періоді новонародженості та в подальшому перебували під медичним спостереженням, наведено результати клінічного спостереження та лабораторного обстеження 103 новонароджених та їх матерів з аналізом стану здоров'я матерів, особливостей перебігу вагітності та пологів, дослідження вмісту сурфактантного протеїну В в крові новонароджених, генетичним дослідженням генного поліморфізму сурфактантного протеїну В та його зв'язку з формуванням бронхолегеневої патології.

У вступі здобувач чітко окреслює актуальність проблеми формування бронхолегеневої патології у дітей, наведено аналіз факторів ризику та причин патології бронхолегеневої системи у дітей. Зазначено, що передчасно народжені діти мають ризик формування хронічних бронхолегеневих захворювань внаслідок незрілості легень, дії пошкоджуючих факторів перинатального періоду, зокрема інтенсивної терапії, штучної вентиляції легень, запалення. Наведено аналіз літературних даних з питань системи сурфактанту легень, сурфактантних протеїнів, їх ролі в забезпеченні функції дихальної системи.

Автор чітко формулює мету та завдання дослідження, демонструє наукову новизну і практичну значущість отриманих результатів.

Розділ I «Сучасні погляди на особливості формування бронхолегеневої патології у передчасно народжених дітей (аналітичний огляд літератури)».

В аналітичному огляді літературних джерел проаналізовано медичні та генетичні фактори формування бронхолегеневих захворювань у дітей. Зазначено, що найважливішими чинниками ризику захворювань легень у

новонароджених та дітей раннього віку є передчасне народження, несприятливий перебіг перинатального та неонатального періодів життя дитини, внутрішньоутробна та перинатальна інфекція, неефективна медична допомога при народженні, тривала штучна вентиляція легень та інше. Фізіологічний розвиток легень та їх функції забезпечує система сурфактанту, до складу якої входять фосфоліпіди та сурфактантні протеїни.

Представлено сучасні наукові дані щодо генетичних детермінант різних захворювань. На теперішній час вивчені найбільш поширені генетичні особливості таких захворювань як РДС, бронхіальна астма, БЛД та інші. Впровадження сучасних технологій інтенсивної терапії та виходжування передчасно народжених дітей забезпечили підвищення рівня виживання дітей з дуже малою масою тіла, водночас збільшилась питома вага немовлят з бронхолегеневою дисплазією.

Сучасним методом діагностики є молекулярно-генетичні дослідження, які дозволяють виявити та спостерігати не тільки мутації в генах, але й також генний поліморфізм. Генний поліморфізм - це різноманітність частот алелей гомозигот. Відмінності між алелями одного і того ж гена, як правило, полягають в незначних варіаціях його «генетичного» коду. Велику частку в генетичний поліморфізм вносять заміни одного нуклеотиду на інший та зміни числа повторюваних фрагментів ДНК.

Розділ II «Дизайн, матеріали і методи дослідження».

Для формування гіпотези, вивчення поширеності захворювань бронхолегеневої системи було проведено ретроспективне обстеження амбулаторних карт та карт стаціонарних хворих 657 дітей, які знаходились на лікуванні в неонатальному центрі Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні з 2006 по 2009 роки у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених. Було здійснено обробку інформації, отриманої за допомогою спеціально розроблених анкет, які включали данні соціального, біологічного анамнезу, лабораторно-інструментальних методів обстеження.

До проспективного дослідження було залучено 103 дітей, які знаходились на спостереженні у Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні (ВОДКЛ).

Критеріями включення дітей у дослідження були: народження до 37 тижня вагітності, наявність дихальних розладів у перші 5 днів життя, відсутність застосування препаратів сурфактанту у неонатальному періоді, згода батьків на участь у дослідженні. Критеріями виключення із дослідження були: доведена хромосомна патологія, вроджені вади розвитку, відмова батьків від участі у даному дослідженні на будь-якому етапі його проведення.

Даний етап передбачав клінічне обстеження дітей, метою якої була оцінка особливостей перебігу ante- та перинатального періодів з виявленням чинників ризику виникнення патології, асоційованої з перебуванням на ШВЛ, особливостей її перебігу в неонатальному періоді, проведення рутинних та спеціальних лабораторних та інструментальних досліджень.

Катамнестичне диспансерне спостереження було проведено за 103 дітьми, включеними у дослідження, які були виписані з неонатального центру ВОДКЛ. Диспансерний нагляд за дітьми розпочинався одразу після виписки зі стаціонару та тривав щонайменше до досягнення ними віку 5 років. На кінець проспективного спостереження вдалося простежити долю 90 (87,3%) дітей.

Для виконання поставлених завдань застосовано наступні методи дослідження: загальноклінічні (в неонатальному та постнеонатальному періодах), лабораторні рутинні (загальний розгорнутий аналіз крові, кількість тромбоцитів, гематокрит, глюкоза, білок і електроліти сироватки крові, сечовина, креатинін, АЛТ, АСТ, С-реактивний білок (СРБ), загальний аналіз сечі, інструментальні дослідження (рентгенографія ОГК, НСГ), біохімічне дослідження вмісту сурфактантного протеїну В, генетичне дослідження, катамнестичне спостереження за станом здоров'я та розвитку дітей, методи описової статистики.

Проведено клінічне спостереження та лабораторне обстеження передчасно народжених дітей у відділеннях неонатологічного центру Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні відповідно до клінічних протоколів медичної допомоги новонародженим. Діагноз БЛД встановлювали відповідно до критеріїв Е. Bankalary і співавт.: ШВЛ протягом перших 3 днів життя, киснева терапія не менше 28 днів, збереження у віці 28 діб симптомів дихальної недостатності і рентгенологічні зміни в легенях. Діагноз бронхіальної астми встановлювали відповідно до критеріїв GINA 2017.

Розділ III «Чинники ризику формування бронхолегеневої патології у дітей на основі даних ретроспективного дослідження».

Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб 657 дітей, які знаходились на лікуванні в неонатальному центрі Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні з 2006 по 2008 роки у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених (ВАІТН). Був створений протокол, в якому були відображені дані щодо особливостей перебігу антенатального, неонатального періодів розвитку новонародженої дитини, результатів лабораторно-інструментальних методів обстеження, урахування оцінки стану здоров'я матері, її акушерського, соматичного статусу, перебігу даної вагітності та пологів.

В подальшому було вивчено амбулаторні карти 657 дітей, включених в дослідження, які знаходились на обліку в кабінеті контролю та корекції розвитку дітей високого перинатального ризику консультативної поліклініки Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні. На підставі отриманих даних було проведено комплексну оцінку стану здоров'я дітей протягом перших 3-х років життя з визначенням можливих чинників ризику та встановленням взаємозв'язку з віддаленими наслідками.

Основну групу склали 420 дітей, які в неонатальному періоді у комплексному лікуванні отримували ШВЛ, в групу порівняння ввійшли 237

новонароджених, які не потребували проведення ШВЛ. Кожну з груп було розділено на 2 підгрупи: передчасно народжені та доношені.

Розділ IV «Аналіз вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові та його зв'язку з формуванням бронхолегеневої патології».

Представлено результати аналізу стану здоров'я, перебігу вагітності і пологів у матерів 103 дітей, залучених у проспективне дослідження. Встановлено, що більшість матерів (97,1 %) мали соматичні захворювання. Виявлено, що 89,5 % матерів мали ускладнений перебіг вагітності, в структурі патології вагітності переважали ГРВІ, анемія під час вагітності, пієлонефрит, комбінації соматичних та інфекційних захворювань. При вивченні шляху народження дітей визначено, що 10 дітей народилися шляхом кесарського розтину, решта 93 (90,2 %) народилися природнім шляхом.

Дослідження вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові показало більш високий вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові дітей з масою тіла менше 1500 грам та у дітей, які народились у гестаційному віці менше 32 тижнів. Дослідження вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові в залежності від захворювань дихальної системи показало, що у дітей, яким у подальшому був встановлений діагноз БЛД, спостерігався найвищий вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові.

Було проаналізовано потребу новонароджених дітей в дихальній підтримці та її тривалість. Встановлено що 59 дітей основної групи (57,2 %) потребували дихальної підтримки після народження. Середня тривалість дихальної підтримки становила $7,9 \pm 2,3$ дні, найдовша тривалість кисневої терапії була протягом 41 доби.

Результати аналізу вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові в залежності від типу та тривалості дихальної підтримки продемонстрували вищі показники сурфактантного протеїну В у сироватці у дітей, яких потребували дихальної підтримки у порівнянні з дітьми, які її не отримували.

Діти, які отримували ШВЛ більше 3 днів мали вищий вміст сурфактантного протеїну В у сироватці, у порівнянні з дітьми, які потребували ШВЛ менше 3 днів.

Проведено регресійний аналіз показників (маса тіла при народженні, гестаційний вік, вік матері, тривалість ШВЛ, тривалість кисневої терапії) і визначено рівняння регресії для прогнозування вмісту сурфактантного протеїну В в сироватці крові. Найбільш важливими факторами, які чинили вплив на вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові за даними дослідження була маса тіла при народженні, термін гестації та тривалість ШВЛ.

Проведено катамнестичне спостереження за 90 дітьми протягом 5 років життя, проаналізовано стан їх здоров'я. Провідними в структурі захворювань дихальної системи виявилися: бронхіальна астма у 13,4% (12) дітей, повторні епізоди обструктивних бронхітів у 38,8 % (35) дітей та БЛД у 7,8 % (7) дітей. Серед 36 (40 %) дітей бронхолегеневої патології виявлено не було.

Було проведено оцінку вмісту сурфактантного протеїну В залежно від бронхолегеневої патології у віці 5 років. Найвищий вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові спостерігався у дітей з БЛД. У групі дітей без розвитку бронхолегеневої патології середній вміст сурфактантного протеїну В у сироватці крові був найнижчим.

Враховуючи різний рівень показників сурфактантного протеїну В, було використано визначення чутливості та специфічності вмісту сурфактантного протеїну В для прогнозування розвитку бронхолегеневої патології у віці 5 років. При значенні вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові в неонатальному періоді вище 40,75 нг/мл, можна говорити про ризик формування бронхолегеневої патології (чутливість 75,4 %, специфічність 74,8 %).

Розділ V «Дослідження генного поліморфізму сурфактантного протеїну В та його зв'язку з формуванням бронхолегеневої патології»

Представлено результати проведеного генетичного дослідження поліморфної ділянки промотора сурфактантного протеїну В rs11130866 С/Т у 50 дітей. За результатами дослідження у дітей було виявлено три основні послідовності нуклеотидів: СС, СТ і ТТ. Серед усіх дітей послідовність СС визначено в 17 (34 %) пацієнтів, послідовність нуклеотидів ТТ у 12 (24 %) пацієнтів, а послідовність нуклеотидів СТ в поліморфній ділянці гену спостерігалась у 21 (42 %) дитини.

Аналіз захворюваності дітей в неонатальному періоді показав, що РДС зустрічався частіше у дітей з генотипами СС та СТ, вроджена пневмонія частіше у дітей з генотипом СС та ТТ, БЛД частіше зустрічалась у дітей з генотипом СТ.

Отримані результати показали, що поліморфізм СС С1580Т гену сурфактантного протеїну В зустрічається втричі частіше у дітей, які в подальшому мали повторні епізоди обструктивних бронхітів. Також було виявлено, що поліморфізм ТТ С1580Т гену сурфактантного протеїну В зустрічається в 6 разів частіше у дітей, в яких в подальшому було діагностовано бронхіальну астму. Гомозигота ТТ володіє протективними властивостями по відношенню до формування БЛД та повторних епізодів обструктивних бронхітів.

Було визначено значення чутливості, специфічності, позитивного та негативного прогностичного значення окремих генотипів для формування або відсутності бронхолегеневої патології. Найбільшою чутливістю та специфічністю володіють генотипи ТТ для діагностики бронхіальної астми та генотип СС для діагностики повторних епізодів обструктивних бронхітів.

Розділ VI «Аналіз та узагальнення отриманих результатів дослідження»

Автор детально аналізує отримані результати, порівнює їх з даними інших клінічних та генетичних досліджень, виконаних за кордоном та в Україні. Узагальнення отриманих даних дозволяє обґрунтувати доцільність

визначення вмісту сурфактантного протеїну В у сироватці крові передчасно народжених дітей в неонатальному періоді з метою прогнозування розвитку бронхолегеневої патології в подальшому, а саме, БЛД, астми, повторних епізодів бронхообструктивного синдрому. Також доведено доцільність визначення генного поліморфізму поліморфної ділянки С1580Т сурфактантного протеїну В для прогнозування розвитку бронхолегеневої патології у передчасно народжених дітей.

Достовірність роботи обґрунтована результатами аналізу медичної документації вагітних, породіль та новонароджених, наявністю значної когорти обстежених вагітних та новонароджених, повним комплексним клінічним, генетичним та статистичним дослідженням, яке є достатнім для досягнення мети.

Наукові положення, висновки і рекомендації отримані автором за допомогою сучасної статистичної обробки, є обґрунтованими і достовірними.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Дисертація викладена на 154 сторінках машинописного тексту. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, 4 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків та практичних рекомендацій. Список використаних джерел представлено на 21 сторінці, він включає в себе 55 публікацій кирилицею та 121 латиницею. Дисертація ілюстрована 18 таблицями та 13 рисунками.

Матеріали дисертації опубліковано у 11 наукових працях, в тому числі 5 статей у журналах, затверджених ДАК України для публікації результатів дисертаційних робіт, 1 статті у міжнародному журналі, решта праць – у матеріалах конгресів, конференцій

8. Недоліки дисертації та автореферату щодо її змісту і оформлення.

При роботі з дисертаційним дослідженням та авторефератом принципових зауважень не виникло. Робота заслуговує на позитивну оцінку, водночас виникли наступні запитання:

1. За результатами Ваших досліджень визначення сурфактантного протеїну В дає можливість прогнозувати формування бронхолегеневої дисплазії у дітей. Які заходи лікування та профілактики Ви рекомендуєте для дітей зазначеного ризику?
2. Які прогностичні фактори мають найбільший зв'язок з формуванням бронхолегеневої дисплазії у обстежених новонароджених?
3. Ваше ставлення до вирішення проблеми генетично детермінованої перинатальної патології плода та новонародженого?

9. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Результати дисертації можуть бути використані у медико-генетичних центрах, акушерських та неонатологічних відділеннях перинатальних центрів, центрів охорони здоров'я матері та дитини, відділеннях для новонароджених та дітей раннього віку закладів охорони здоров'я.

10. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Мазулова Олександра Васильовича «Патогенетична роль сурфактантного протеїну В у формуванні бронхолегеневої дисплазії у дітей», подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія, є завершеним, самостійним науковим дослідженням, яке вирішує актуальне завдання педіатрії – підвищення ефективності діагностики та прогнозування формування захворювань бронхолегеневої системи шляхом вивчення патогенетичної ролі сурфактантного протеїну В у розвитку патології системи дихання у передчасно народжених дітей, що сприяє покращенню стану здоров'я дітей, зменшенню захворюваності та смертності.

Дисертаційне дослідження Мазулова О.В. дозволило встановити нові патогенетичні аспекти формування захворювань бронхолегеневої системи у дітей та розширити відомі клінічні, генетичні і патогенетичні особливості респіраторного дистрес синдрому, бронхо-легеневої дисплазії новонароджених та дітей раннього віку.

Таким чином, дисертація Мазулова О.В. відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року) щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія.

Офіційний опонент

завідувач кафедри неонатології

НМАПО імені П.Л.Шупика

член-кореспондент НАМН України

професор



Є.Є. Шунько
С.Є. Мусовка
АСВІДЧУВ
№ 02-18