

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Гордуковой Марии Александровны «Разработка и валидация количественного метода анализа молекул ДНК TREC и KREC для диагностики первичных иммунодефицитных состояний», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Диссертация М.А. Гордуковой посвящена разработке, валидации и клинической апробации методики для количественного определения молекул TREC и KREC, используемых для диагностики первичных иммунодефицитов (ПИД).

ПИД представляют собой генетически неоднородную группу заболеваний со сходными клиническими проявлениями, связанными с низким уровнем полноценно функциональных Т- и В-лимфоцитов. Относительно высокая заболеваемость (в Европе оценивается в 6-7 случаев на 100 000 населения), тяжесть течения и неблагоприятный прогноз ПИД диктуют необходимость ранней диагностики этой группы заболеваний с целью своевременного лечения и повышения качества жизни больных. До настоящего времени серьезную клиническую проблему представляет поздняя диагностика ПИД. С целью ранней диагностики, скрининга и прогнозирования течения ПИД недавно (в 2005 и 2007 годах) предложены подходы, основанные на количественном измерении ДНК эксцизионных колец Т-клеточного рецептора (TREC) и каппа-делеционного элемента (KREC). За рубежом предложены методические подходы для количественного определения молекул TREC и KREC, которые имеют ряд недостатков главный из которых – отсутствие возможности одновременного определения в количественном формате в присутствии положительного внутреннего контроля. Кроме того, опубликованные методики не могут быть применены на базе отечественных диагностических лабораторий в качестве разрешенных к использованию медицинских изделий для *in vitro* диагностики, поскольку они не зарегистрированы в установленном порядке на территории России.

В связи с этим диссертационное исследование М.А. Гордуковой, заключающееся в разработке и валидации методики для количественного определения молекул TREC и KREC является важной задачей клинической лабораторной диагностики.

Для достижения поставленной цели автором использованы современные молекулярно-биологические и статистические методы исследования.

Поставленные задачи диссертантом решены полностью. В результате решения задач диссертационного исследования была разработана и реализована в качестве набора реагентов 3-плексная основанная на ПЦР в режиме реального времени методика для количественного определения ДНК TREC и KREC. Заявленные аналитические характеристики методики – предел детекции и линейный диапазон количественных определений –

позволяют ее использовать для задач клинической лабораторной диагностики. Проведенная клиническая апробация с использованием 2739 образцов позволила определить рефернсные диапазоны количественных измерений для задач, связанных со скринингом ПИД у новорожденных, и установить пороговые значения для четырех ПИД, выявляемых данным скринингом. В автореферате представлены клинические примеры иммунодефицитных состояний, диагностированных с применением разработанной методики, что дополнительно подчеркивает практическую значимость диссертационного исследования. Предлагаемый подход в целом повышает качество лабораторной диагностики ПИД, что важно для решения как поисковых научных, так и практических клинических задач.

Материалы диссертационного исследования М.А. Гордуковой опубликованы в 24 работах, среди которых 1 патент и 13 статей в рецензированных журналах, из них 11 российских публикаций в журналах, входящих в перечень ВАК РФ. Работа полностью соответствует пунктам 1, 6 и 7 и частично – пункту 4 паспорта специальности «Клиническая лабораторная диагностика».

Наряду с некоторыми техническими вопросами, связанными с разработкой и валидацией методик, не носящих принципиальный характер (определение предела детекции, различия в рабочих концентрациях олигонуклеотидов, отсутствие приведенных данных о воспроизводимости на различном оборудовании для ПЦР-РРВ, вызывающих вопросы дизайн экспериментов с титровкой минорной фракции ДНК выше 10%), хотелось бы уточнить у автора принципиальный вопрос, связанный с регистрацией разработанной методики в качестве набора реагентов, разрешенного к применению на территории России и Казахстана. Где находится производственная площадка для выпуска набора, и кто является дистрибьютором данного медицинского изделия? Несомненно, данный набор после проведения дополнительных клинических испытаний мог бы быть использован не только для диагностики ПИД, но и для решения других научных задач, например, для определения биологического возраста, или задач, отраженных автором в разделе «Перспективы дальнейшей разработки темы». Вопросы, связанные с деталями разработки и регистрации набора реагентов, не носят принципиальный характер и ответы на них были получены.

Таким образом, диссертация М.А. Гордуковой «Разработка и валидация количественного метода анализа молекул ДНК TREC и KREC для диагностики первичных иммунодефицитных состояний», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика наук, является законченной научной квалификационной работой, которая соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017 г.

№1168 от 01.10.2018г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор диссертационной работы заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика.

Руководитель научной группы
разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов
ФБУН «Центрального НИИ Эпидемиологии»
Роспотребнадзора, д.м.н.



К.О. Миронов

Подпись	<i>Н.О. Мещеряков</i>	заверяю
Ученый секретарь	<i>Н.О. Мещеряков</i>	
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора		

17.09.2021

ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора
111123, Москва, ул. Новогиреевская 3а
Тел. (495) 672-10-69, факс (495) 304-22-09
e-mail: crie@pcr.ru, www.crie.ru