

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Розуменко Інни Олександрівни

"Зв'язок поліморфізму генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому",

подану до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при

Сумському державному університеті

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

Актуальність теми. Актуальність обраної теми зумовлена високою розповсюдженістю гострих форм ішемічної хвороби серця, а також частою інвалідизацією населення. За даними ВООЗ, за один рік від хвороб серця і судин помирає понад 17 мільйонів осіб. В Україні понад 25,9 млн. осіб страждають на серцево-судинні захворювання.

Атеросклероз судинної стінки є основною патофізіологічною причиною розвитку більшості серцево-судинних хвороб. Розрив ускладненої атеросклеротичної бляшки, що зазнала кальцифікації, майже в 80 % випадків призводить до розвитку гострих коронарних подій, у тому числі й гострого коронарного синдрому.

Доведено, що розвиток кальцифікації відбувається за умов порушення балансу між факторами – інгібіторами та активаторами – відкладення кристалів кальцію в атеросклеротичній бляшці. Дисертант спрямувала свої дослідження саме на алельний поліморфізм генів, що захищають судинну стінку від кальцифікації, та, навпаки, сприяють звапнінню судин. Зменшення рівня одного з інгібіторів кальцифікації – неорганічного пірофосфату у позаклітинному просторі є важливим чинником спадкової схильності до склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень, зокрема гострого коронарного синдрому. Поглиблення знань про генетичну складову атеросклерозу може сприяти сучасним методам прогнозування та своєчасній профілактиці летальних наслідків ускладнень атеросклерозу.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Отримані в дисертаційній роботі наукові положення і висновки є обґрунтованими достатнім обсягом сучасних молекулярно-генетичних (полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів), клінічних, лабораторних, інструментальних та статистичних досліджень.

Наукове дослідження має правильно спланований дизайн, групи репрезентативні, кількість досліджень достатня (118 хворих з гострим коронарним синдромом і 110 осіб контрольної групи), вибірка репрезентативна.

Статистичний аналіз проводили за допомогою використання програми SPSS-17 відповідно до вимог ГОСТу 11.006-74. Аналіз нормальності розподілу величин у вибірках проведено за допомогою критерію Колмогорова – Смирнова. Перевірку різниці розподілу генотипів дисертант здійснювала за допомогою χ^2 -критерію Пірсона. Для прогнозування ризику розвитку гострого коронарного синдрому було використано метод логістичної регресії.

Комісія з питань біомедичної етики медичного інституту Сумського державного університету в результаті перевірки наданих матеріалів дисертаційного дослідження встановила, що дослідження, яке виконане аспіранткою Розуменко І. О. відповідає вимогам закону України «Про лікарські засоби», 1996, ст. 7, 8, 12; документам ICH GCP (2008 р.), GLP (2002 р.), типовим положенням з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009р. (протокол № 3 від 22 травня 2015 р.). Усі пацієнти підписали інформовану угоду на участь у дослідженнях.

Результати роботи статистично обґрунтовані, висновки логічно витікають з результатів, добре аргументовані та відповідають поставленим завданням. Основні положення дисертації відрізняються науковою новизною та практичним значенням.

Достовірність і наукова новизна отриманих результатів. Для дисертаційних досліджень використано достатню кількість матеріалу: венозну кров 118 хворих з гострим коронарним синдромом та 110 практично здорових осіб. Вибірка двох груп підкорювалась закону про розподіл нормальних величин.

Вперше в українській популяції досліджено розподіл алелів та генотипів за поліморфізмами K121Q гена *ENPP1*, A69314G гена *TNAP* і T134967G гена *ANKH* у практично здорових осіб та хворих з гострим коронарним синдромом. Доведено, що поліморфізми A69314G гена *TNAP* і T134967G гена *ANKH* асоційовані з розвитком захворювання.

Автор уперше проаналізував вплив поліморфних варіантів досліджуваних генів на розвиток гострого коронарного синдрому з різними факторами ризику. Вперше виявлено, що ризик його виникнення у осіб чоловічої статі з A/G + G/G генотипом (поліморфізм гена *TNAP*) вищий, ніж у пацієнтів з A/A генотипом.

Дисертантом вперше встановлено зв'язок поліморфізмів генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з гострим коронарним синдромом у пацієнтів з різними величинами індексу маси тіла.

Уперше одержано дані про зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із порушеннями ліпідного обміну та гіперкоагуляцією крові у пацієнтів з гострим коронарним синдромом. У хворих-носіїв гомозигот за основним алелем, виявлені порушення ліпідного спектру та коагуляції крові, що свідчить про більшу схильність до розвитку атеросклерозу і його ускладнень.

Практичне значення одержаних результатів та висновків. Результати роботи значно розширюють відомості про роль генетичних факторів у патогенезі гострого коронарного синдрому. Дослідження зв'язку поліморфізму генів інгібіторів та активаторів кальцифікації судинної стінки з розвитком гострим коронарним синдромом та деякими факторами ризику можуть бути використані для прогнозування виникнення захворювання та сприятиме своєчасній профілактиці летальних наслідків ускладнень атеросклерозу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням, яке відповідає паспорту спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки) за такими пунктами напрямів досліджень: «2.1» - виявлення й дослідження етіологічних факторів, які призводять до порушень діяльності органів і систем організмів людини і тварин; «2.6» - дослідження в галузі клінічної патофізіології, зокрема розробка та застосування функціональних тестів з метою удосконалення

діагностики, вивчення загальних і спеціальних закономірностей виникнення та розвитку патологічних процесів і захворювань у клінічних умовах, розробка патогенетичних методів їх попередження і лікування.

Представлена дисертаційна робота є частиною планових комплексних науково-дослідних тем кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету «Роль поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб» (номер державної реєстрації 0114U006297, термін виконання 2013 – 2015 роки), співвиконавцем якої була автор дисертаційної роботи.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та в авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових праць, у яких повністю відображені основні результати дисертації, із них 7 статей (1 – за кордоном, 1 – у виданні, включеному до науково-метричної бази Scopus, решта – у фахових виданнях, що входять до переліку ДАК України), 11 тез доповідей у матеріалах конференцій, з'їздів, конгресів як міжнародних, так і всеукраїнських.

Основні положення дисертації ґрунтовно і логічно відображені в авторефераті, який відповідає змісту дисертації.

Відповідність вимогам змісту і оформлення дисертації. Дисертація побудована за класичною схемою. Вона містить вступ, огляд літератури (займає 23 сторінки, містить 2 підрозділи), опис матеріалів і методів дослідження, розділ з описом власних результатів, їх аналіз та узагальнення, висновки, практичні рекомендації, список джерел літератури. Дисертація викладена на 185 сторінках друкованого тексту, ілюстрована таблицями та рисунками. Наводяться посилання на 245 літературних джерел (17 – кирилицею, 228 – латиницею).

У «Вступі» дисертації наведена актуальність обраної теми, сформульовано мету та завдання дослідження, об'єкт, предмет і методи дослідження, наведено новизну та практичну значимість результатів, зазначено особистий внесок дисертанта у виконанні роботи.

Розділ «Огляд літератури» займає 23 сторінки, містить два підрозділи. Ґрунтовно висвітлюються сучасні уявлення на патогенез гострого коронарного синдрому та роль досліджуваних генів у механізмах розвитку кальцифікації

судини. Даний розділ ілюстровано рисунками, що узагальнюють викладений матеріал. Дисертантом опрацьовано достатню кількість сучасних літературних джерел, як вітчизняних, так і зарубіжних науковців.

У розділі «Матеріали та методи» наведено характеристику клінічного матеріалу. Всі дослідження проводилися з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етнічні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Автором зазначено критерії включення та виключення до досліджень. Наведено відомості щодо застосованих методів дослідження (клінічних, молекулярно-генетичних та статистичних). Детально описано методику генотипування пацієнтів за досліджуваними поліморфізмами генів та наведено електрофореграми з детальних їх описом. Наприкінці розділу дисертантка дає опис статистичних методів дослідження.

Третій розділ «Результати власних досліджень» займає 77 сторінок, складається з трьох підрозділів відповідно до результатів генотипування за досліджуваними поліморфізмами трьох генів. Розділ містить 9 рисунків та 91 таблицю. Автор наводить зв'язок поліморфізмів вивчених генів із розвитком гострого коронарного синдрому з урахуванням відомих факторів ризику та вплив цих поліморфізмів на основні клінічні характеристики даної патології.

У першому підрозділі виявлено вплив алельного поліморфізму K121Q гена *ENPP1* на розвиток гострого коронарного синдрому. Дисертантом встановлено, що K121Q поліморфізм не асоційований з його виникненням. Серед факторів ризику виявлений зв'язок гострого коронарного синдрому з мінорним алелем у пацієнтів з нормальною величиною індексу маси тіла та підтверджено вплив паління на дане захворювання.

У другому підрозділі досліджено зв'язок A69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком гострого коронарного синдрому. Автором доведено асоціацію поліморфізму 9-го екзону гену *TNAP* у хворих чоловічої статі. Також серед факторів ризику виявлено зв'язок поліморфізму з розвитком гострого

коронарного синдрому в осіб із надмірною вагою та підтверджено вплив паління на дане захворювання.

У третьому підрозділі встановлено асоціацію T134967G поліморфізму гена *ANKH* з виникненням гострого коронарного синдрому. Також доведено, що серед пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м², носіїв мінорного алеля, гострий коронарний синдром виникає в 3,1 рази частіше, ніж у гомозигот за основним алелем. А в осіб із T/G + G/G генотипом, тих, які не палять, гострий коронарний синдром виникає в 2,1 рази частіше, ніж у осіб із T/T генотипом.

Розділ «Обговорення та узагальнення результатів досліджень» складається із 16 сторінок та містить стислий виклад основних положень дисертації та порівняння отриманих результатів із сучасною літературою. Дисертантом складена оригінальна схема, в якій наведено можливий механізм впливу вивчених поліморфізмів генів *ENPP1*, *ANKH* та *TNAP* на розвиток гострого коронарного синдрому. Припущено, що зазначені поліморфізми впливають на баланс між неорганічним пірофосфатом та неорганічним фосфатом у позаклітинному середовищі, у бік збільшення останнього. Автор зазначає, що це може посилювати кальцифікацію атеросклеротичної бляшки, що в подальшому призводить до її нестабільності, тромбозу судини та розвитку гострого коронарного синдрому.

Висновки логічно вирішують задачі дослідження та логічно випливають із основного змісту дисертації, ґрунтуються на отриманих автором даних. У п'яти висновках послідовно надано наукове, теоретичне та науково-практичне вирішення актуального патофізіологічного завдання – з'ясування зв'язку поліморфізму генів інгібіторів (K121Q поліморфізму гена *ENPP1* і T134967G поліморфізму гена *ANKH*) та активаторів (A69314G поліморфізму гена *TNAP*) ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому.

Суттєвих недоліків у дисертації та авторефераті немає, однак у порядку наукової дискусії необхідно висловити такі **зауваження** та побажання.

1. Слід зазначити, що в роботі виявляли асоціацію вивчених поліморфізмів із факторами ризику розвитку гострого коронарного синдрому, а не

безпосередньо з механізмами його виникнення. Дисертант не вимірювала рівень неорганічного пірофосфату або інших факторів патогенезу у носіїв різних генотипів, тому більш доцільно було б стверджувати, що існує зв'язок досліджуваних поліморфізмів саме з етіологічними чинниками, а не з конкретними механізмами.

2. Узагальнюючу схему «Механізм впливу вивчених поліморфізмів генів *ENPP1*, *ANKK1* і *TNAP* на розвиток ГКС», яка наведена у авторефераті, бажано було доповнити результатами власних досліджень, отриманих у ході виконання дисертації.

3. Для оцінки ролі алелей у розвитку гострого коронарного синдрому доцільно було проаналізувати мультиплікативну модель, у той час як дисертант обмежився лише впливом генотипів.

Слід зазначити, що наведені зауваження не носять принципового характеру, не впливають на загальний зміст та не знижують наукової цінності дисертаційної роботи. Основні наукові положення та висновки дисертації не підлягають сумніву.

У порядку наукової дискусії хотілося б почути відповіді Розуменко І. О. на такі запитання:

1. Як Ви визначали групу пацієнтів, що палять і не палять? Чи застосовували Ви анкетування? В якій кількості пацієнти палили і який стаж паління у Вашої групи курців?

2. У Ваших дослідженнях серед пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м² виявлений зв'язок між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком ГКС, а також, встановлено достовірний зв'язок між величиною ІМТ та розвитком ГКС у гомозигот за основним алелем. Як Ви це можете пояснити, оскільки відомо, що до розвитку ГКС більш схильні особи з надмірною вагою, носії мінорного алеля за K121Q поліморфізмом?

3. На Вашу думку чи достатньо вивчених Вами генетичних чинників для встановлення зв'язку між факторами, що впливають на рівень кальцифікації судини, та розвитком гострого коронарного синдрому?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Розуменко Інни Олександрівни: «Зв'язок поліморфізму генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому», виконана зі спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки) згідно з паспортом спеціальності. Робота є закінченим і самостійним науковим дослідженням, актуальна, виконана на достатньому матеріалі з використанням сучасних методів досліджень, містить оригінальні, принципові та суттєві, раніше не захищені, наукові положення. За обсягом виконаних досліджень, актуальністю обраної теми, новизною отриманих результатів та їх науково-практичним значенням дисертація відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її виконавець, Розуменко Інна Олександрівна, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

завідувач відділу патофізіології,
імунології та трансплантології
Українського науково-практичного центру
ендокринної хірургії, трансплантації
ендокринних органів і тканин МОЗ України
доктор медичних наук, професор



С. В. Зябліцев

Зябліцев С.В. зовую
Сергій зовую директор Ін. Крушинського