

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Багрій Віти Володимирівни на тему: «Неускладнена гіпертонічна хвороба у жінок, клініко-діагностичне значення поліморфізму гена ППАР-γ та плазмової концентрації судинорухових пептидів», представленої на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.11 – кардіологія.

I. Актуальність теми.

Відомо, що гіпертонічна хвороба в багатьох випадків є генетично детермінованим захворюванням. Про це свідчать багаточисленні дані літератури. У той же час роль і місце поліморфізму генів, що контролюють розвиток гіпертонічної хвороби (ГХ) остаточно нез'ясовані. До числа найменш вивчених відноситься питання про поліморфізм гена ППАР-γ (пероксисом-проліфератор -активуючих рецепторів - γ) і AT1R (рецептора ангіотензину II першого типу). Особливого значення слід очікувати при дослідженні зв'язків зазначених генів та генотипів із ріннями в крові С-натрійуретичного пептиду (С-НУП) та ендотеліну-1 (ЕТ-1), відомими пептидами - регуляторами тонусу судин та рівня артеріального тиску (АТ), між якими існує природний антагонізм щодо впливу на судинну стінку і АТ.

Мета роботи сформульована чітко і виразно: покращити точність діагностики ГХ у жінок постменопаузального періоду шляхом дослідження варіанту успадкованого гену ППАР-γ та плазмової концентрації С-НУП і ендотедіну-1. Для досягнення зазначеної мети автор сформулювала 5 конкретних, логічно викладених завдань, в останньому з яких вказує на необхідність розробки додаткових критеріїв діагностики важкості та прогнозування перебігу ГХ у жінок в постменопаузі.

При цьому дисертант наводить інформацію про зв'язок даної роботи з тематикою наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, зокрема з темою «Використання генетичних та нейрогуморальних чинників для прогнозування перебігу та ефективного лікування серцево-судинних захворювань» (№ держреєстрації 0111V10415).

2. Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше в медичній науці отримані результати, що вказують на наявність зв'язку успадкування різних варіантів гена ППАР-γ та захворюваності на ГХ у жінок в постменопаузі. Установлено, що наявність алеля A1a в генотипі ППАР-γ у мешканок

Вінницької області є чинником високої захворюваності на ГХ та її прогресування. Відтак, дисертант вперше вивчила співвідношення розподілу різних варіантів гена ППАР-у та генів AT1R. На відміну від здорових жінок, володарок генотипу Pro/Pro, в яких часто зустрічається генотип AA (66%) гена AT1R, у носіїв генотипу Pro/Pro, хворих на ГХ частіше виявляється алель C, успадкування якого призводить до розвитку ГХ. Автор упевнено довела, що ризик виникнення ГХ I стадії у носіїв алелю ALa в 1,76 разивищий, ніж у носіїв генотипу Pro/Pro ($P<0,05$). Далі встановлено, що ризик розвитку ГХ II стадії у жінок, що раніше мали I-у стадію ГХ і є носіями алелю Ala в 1,33 разивищий, ніж у носіїв генотипу Pro/Pro ($p<0,05$).

Установлено, що показники співвідношення концентрації вазодилататора/вазоконстриктора в плазмі (C-НУП/ЕТ-1) у хворих з ГХ I стадії нижчий ніж у здорових, а у хворих з ГХ II стадії нижчий, ніж у хворих з ГХ I стадії ($p<0,05$). Відтак доведено, що в жінок хворих на неускладнену ГХ в разі успадкування генотипу Pro/Pro концентрація C-НУП достовірно нижча, ніж в осіб – носіїв алелю Ala.

З'ясовано також, що носійство генотипу Pro/Pro гена ППАР-у асоціюється з тяжчим ураженням ЛШ: в таких жінок вищий індекс маси міокарда ЛШ. При цьому наявність діастолічної дисфункції супроводжується посиленою продукцією ЕТ-1.

Успадкування ж алелю Ala ППАР-у асоціюється з більш вираженими негативними змінами ліпідного спектру крові (ІІ В та змішаний типи ДЛП).

3. Практичне значення.

Практичне значення роботи полягає в розробці нових рекомендацій для планування заходів первинної профілактики ГХ і прогнозування перебігу ГХ у жінок постменопаузального періоду на основі визначення генотипу ППАР-у та рівня плазмової концентрації С-НУП, що захищено деклараційним патентом України на корисну модель (№ и 201200670 від 23.12.2012 р.).

Виявлення у жінок постменопаузального віку алелю Ala гена ППАР-у дає можливість передбачати в них розвиток ГХ, що важливо на етапі скринінгу.

4. Зміст та оформлення роботи.

Структура дисертації сформована згідно вимог ДАК України, викладена на 141 сторінці машинописного тексту, з яких 116 займає основний текст, що включає вступ, огляд літератури, опис матеріалу і методів дослідження, два розділи результатів власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації. Список літератури включає – 201 джерело, з яких 92 - кирилицею, а 109 - латиницею. Дисертація ілюстрована 26 таблицями і 9 рисунками.

У вступі автор обґруntовує актуальність теми та її зв'язок з науковими програмами Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, зокрема з темою «Використання генетичних та нейрогуморальних чинників для прогнозування перебігу та ефективності лікування серцево-судинних захворювань» (№ держреєстрації 0111V010415), формулює її мету та завдання, необхідні для її досягнення, подає наукову новизну та практичну значущість, вказує на об'єкт та предмет дослідження, наводить інформацію про методи, використані в роботі, а також про впровадження в практику лікувально-профілактичних установ Вінницької області, та в навчальний процес (3 кафедри ВНМУ), вказує на особистий внесок автора у виконання роботи.

Результати дисертації оприлюднені на III Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2012) та науково-практичній конференції «Стандарти діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб» (Вінниця, 2012), а також на спільному засіданні кафедр терапевтичного профілю Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 3 від 01.10.2014 року).

За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, з них 5 статей у виданнях, рекомендованих ДАК України для публікації результатів дисертаційних досліджень. Пріоритетність отриманих результатів захищена Патентом України на корисну модель.

Розділ 1 «Огляд літератури» представлений трьома підрозділами, в яких наведені результати аналізу джерел за темою дисертації, її метою та завданнями.

Спочатку дисертант знайомить читача з роллю пероксисом-проліфератор-активуючих рецепторів ізоформи « γ » в регуляції обмінних процесів організму людини. У закінченні першого підрозділу автор констатує, що дані літератури про вплив поліморфізму гена ППАР- γ на розвиток та перебіг серцево-судинних захворювань (ССЗ) не численні і до того ж суперечливі, чим і обґруntовує доцільність вивчення цього питання.

Далі дисертант наводить інформацію щодо сучасних уявлень про роль ППАР в нейрогуморальній регуляції АТ. При цьому автор зазначає, що в літературі не знайдено досліджень щодо значення поліморфізму ППАР- γ ні у здорових жінок постменопаузального віку, ні у жінок такого ж віку хворих на ГХ.

Підрозділ 3 огляду літератури присвячений з'ясуванню ролі системи натрій-уретичних пептидів та ЕТ-1 в регуляції АТ у здорових та хворих на ГХ. При цьому автор робить заключення, що в літературі відсутня інформація щодо динаміки продукції С-НУП у осіб з різними генотипами ППАР- γ . У ході полеміки автор припускає, що поліморфізм гена ППАР може впливати на розвиток ендотеліальної дисфункції.

У цілому огляд літератури добре сформульований, логічно побудований, містить достатньо доступну інформацію щодо значення поліморфізму гена ППАР- γ та плазмової концентрації судинорукових пептидів.

В розділі 2 дисертант спочатку подає клінічну характеристику обстежених жінок (181) віком від 45 до 65 років - мешканок Вінниці та Вінницької області. Всі хворі, які включені в дослідження, проживали на даній території в третьому поколінні, на відстані ≥ 5 км одна від одної, не були поріднені між собою. З числа обстежених 80 «постменопаузальних» жінок без гіпертонії склали першу (контрольну) групу, у 51 такої ж жінки спостерігалася ГХ I стадії, ще в 50 аналогічних жінок - ГХ II стадії. При цьому сукупність хворих (101) увійшли в роботу як група хворих на неускладнену ГХ. Для верифікації стадій ГХ автор використала відомі критерії, рекомендовані Асоціацією кардіологів України. Серед обстежених хворих тривалість гіпертензії склала 4,47 років у II-ї групі (ГХ - I стадія) і 7,12 років у III-ї групі (ГХ - II стадія).

Усі хворі мали збережену систолічну функцію (ФВ ЕхоКГ $> 45\%$). Для виключення хворих з ХСН використовували пробу з 6-ти хвилинною ходою. На

підставі добового моніторування АТ встановлено профіль гіпертензії. У хворих з ГХ II стадії переважали профілі non-dipper або night-picker.

Обстежені хворі отримували базову терапію згідно Протоколу МОЗ України щодо надання медичної допомоги хворих на ГХ I та ГХ II стадії.

У підрозділі 2.2 викладені застосовані методи дослідження.

Серед рутинних методів - це добовий моніторинг АТ, з визначенням профілю гіпертензії (dipper, non-dipper, over-dipper, night-picker), трансторакальне ЕхоКГ з обчисленням ІММЛШ в $\text{г}/\text{м}^2$ та варіантів ремоделювання і гіпертрофії ЛШ (концентрична, ексцентрична), встановлення типу діастолічної дисфункції ЛШ.

Генотип ППАР- γ та АТИР визначали шляхом ПЛР, чутливість і специфічність якої складає 99%.

СНУП та ЕТ-1 визначали методом імуноферментного аналізу.

Ліпідний спектр крові визначався ферментативним колорометричним методом на аналізаторі «Specific Basic Kone» (Фінляндія) з використанням набору «Human» (Німеччина) та набору «Філісіт» (Україна) для верифікації рівня глюкози в крові.

Статистична обробка включала як параметричний, так і непараметричний кореляційний аналіз із використанням рівноваги Харді-Вайнберга, критеріїв t-Стьюдента, U-Манна-Уітні, а також дискримінантний аналіз.

В розділах 3 і 4 представлені результати власних досліджень. У них наведені цікаві для кардіології результати, які викладені автором у вигляді 3 досить об'ємних статтях в Запорізькому медичному журналі (2012) та у матеріалах III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця (2012), науково-практичної конференції «Стандарти діагностики та лікування і клініці внутрішніх хвороб» (Вінниця, 2012).

Підсумок розділу 3: серед «постменопаузальних жінок», мешканок Вінницької області, значно переважає генотип Pro/Pro. Встановлена також достовірна перевага генотипу АА АТИР серед носіїв генотипу Pro/Pro ППАР- γ . Діастолічне наповнення ЛШ виявилося кращим у носіїв алеля Ala. В той же час

встановлено, що рівень ЕТ-І та значення коефіцієнта С-НУП/ЕТ-1 у здорових жінок в постменопаузі не залежить від варіанта генотипу ППАР- γ .

Особливої уваги заслуговує розділ 4, присвячений особливостям розподілу частоти генотипів та алелей генів ППАР- γ та концентрації С-НУП в жінок постменопаузального віку, хворих на ГХ I та II стадії. Основними здобутками цього розділу є доведений факт превалювання успадкування алеля Ala гена ППАР- γ у хворих на ГХ II стадії, що асоціюється з більш вираженим зсувом у них спектру ліпопротеїнів крові (рис.4.3) в сторону атерогенних ліпідів (ЗХС, ТГ, ХС ЛПНГ). У хворих на ГХ I стадії носіїв геному Pro/Pro переважає алель С.

Середні значення плазмової концентрації С-НУП у хворих на ГХ I стадії достовірно нижчі в осіб із генотипом Pro/Pro, ніж в осіб носіїв алелю Ala. При цьому рівень С-НУП достовірно вищий у носіїв генотипу Pro/Pro хворих на ГХ II стадії в порівнянні із хворими на ГХ I стадії, носіїв цього ж генотипу.

Відтак доведено, що співвідношення двох природних антагоністичних пептидів С-НУП/ЕТ-1 є меншим в порівнянні із здоровими жінками, ніж у таких же жінок за наявності ГХ, що означає превалювання у них вазоконстрикторного пептиду ЕТ-1.

Цікавим є й факт асоціації носіїв генотипу Pro/Pro ППАР- γ з показниками, що характеризують структурні зміни в міокарді хворих на ГХ (і КДР, іКСР, КДО, КСО, ТМШП, ТЗСЛШ, ІММ ЛШ) в порівнянні із здоровими жінками в постменопаузі. При цьому зясувалося, що носійство гентипу Pro/Pro ППАР- γ асоціюється з більш вираженими негативними змінами структурних показників міокарда у жінок менопаузального віку хворих на ГХ (табл 4.9).

Важливим для практичної кардіології є критерії діагностики діастолічної функції в обстежених хворих. Автор наводить переконливі дані, що діагноз ДД ЛШ можливий за наявності (рис. 4.7):

- 1) збільшення концентрації в крові С-НУП понад 3,58 пмоль/мл (чутливість критерію 80%, специфічність 100%, точність 94,5%);
- 2) підвищення рівня ЕТ-1 понад 10,7 фмоль/мл (чутливість критерію 67%, специфічність 100%, точність 91%);

3)зменшення співвідношення С-НУП/ЕТ-1 менше 0,37 у.од. (чутливість критерію 63%, специфічність 100%, точність 72%).

Зазначені критерії верифікації ДД ЛШ є реальними для впровадження в широку лікарську практику, доцільно б було оформити ці пропозиції у вигляді інформаційного листа МОЗ України.

Основні положення розділу 4 викладені у 5 публікаціях (журнал Гродненського Государственного університета.-2014.-№5. С. 23-31; часопис «Klinichna ta eksperimentalna patologia».- 2014.-Т XIII, №3(49).- С.125; журнал «Медицинская реабилитация, курортология, физиотерапия».-2014.-№4.- С.50-54; Патент України 72156, опубл. 10.08.2012 р. в Бюл. №15; збірник наукових праць «Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики».- 2014.- №3.- С. 84.).

Розділ 5 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» викладений стисло, лаконічно, послідовно. У якості узагальнюючої представлена схеми про значення ППАР- γ в модуляції каскаду РААС, при цьому автор наводить алгоритм T. Roszer, M. Ricote (2010), рис. 5.1. При цьому було б цікавіше, якби автор навів алгоритм ролі ППАР- γ у розвитку ГХ включаючи результати власних досліджень.

Слід підкреслити, що автор порівнює свої результати з такими ж, отриманими в «постменопаузальних» жінок в інших регіонах України, в Полтаві, Буковині, а також в мешканців Данії й Іспанії.

Отже, на думку автора, яка є добре обґрунтована, у жінок менопаузального віку ризик розвитку ГХ I стадії при носійстві алелю Ala гену ППАР- γ в 1,76 рази вищий, ніж у носіїв гену Pro/Pro, а ризик ГХ II стадії в 1,33 рази вищий, ніж у носіїв генотипу Pro/Pro. У 2/3 обстежених хворих спостерігається носійство генотипу Pro/Pro, а в третини - носійство алелю Ala.

Таким чином, підкреслює в заключенні автор, поліморфізм гена ППАР- γ визначає не лише схильність до виникнення ГХ у жінок в період постменопаузи, але й негативно впливає на вираженість структурно-функціональних змін серця, асоціюється з негативною динамікою рівнів С-НУП, НТ-1, збільшенням кількості атерогенних ліпідів та глюкози крові.

Висновки та практичні рекомендації конкретні, відображають зміст отриманих результатів, відповідають меті та завданням дисертації. У списку використаних джерел переважають праці, виконані в останнє п'ятиріччя. Бібліографічний опис використаної літератури оформленний згідно ДСТУ 7.1:2000.

5. Ступінь обґрунтованості і достовірності положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації.

Робота Багрій В.В. виконана із застосуванням клінічних, добре апробованих лабораторних, інструментальних і статистичних методів дослідження. Результати, отримані автором достовірні, висновки і практичні рекомендації достатньо обґрунтовані. Текст дисертації в цілому викладено логічно і послідовно.

6. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Основні положення дисертації обговорені на наукових форумах та спільному засіданні кафедр терапевтичного профілю Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (протокол №3 від 01.10.2014р.) Матеріали дисертації в повному об'ємі висвітлені у 8 публікаціях, у тому числі у 5 виданнях рекомендованих ДАК України для оприлюднення результатів дисертаційних досліджень та у двох тезах науково-практичних конференцій.

7. Запитання до дисертанта та змісту дисертації.

Разом з позитивною в цілому оцінкою дисертації до її автора Багрій Віти Володимирівни, є наступні запитання:

1. Чи можна екстраполювати отримані результати на всіх мешканців України?

2. З отриманих результатів невідомо чи впливає поліморфізм гена ГПАР- γ на ефективність антигіпертензивної терапії в цілому і стосовно використання інгібітора АПФ та БРА-II, зокрема?

3. Чи планує автор захистити своє авторське право на встановлені факти, як відкриття або винахід?

4. Чи видаватиметься за отриманими результатами Інформаційний лист МОЗ України для практичних лікарів?

Принципових зауважень до дисертації та автореферату немає.

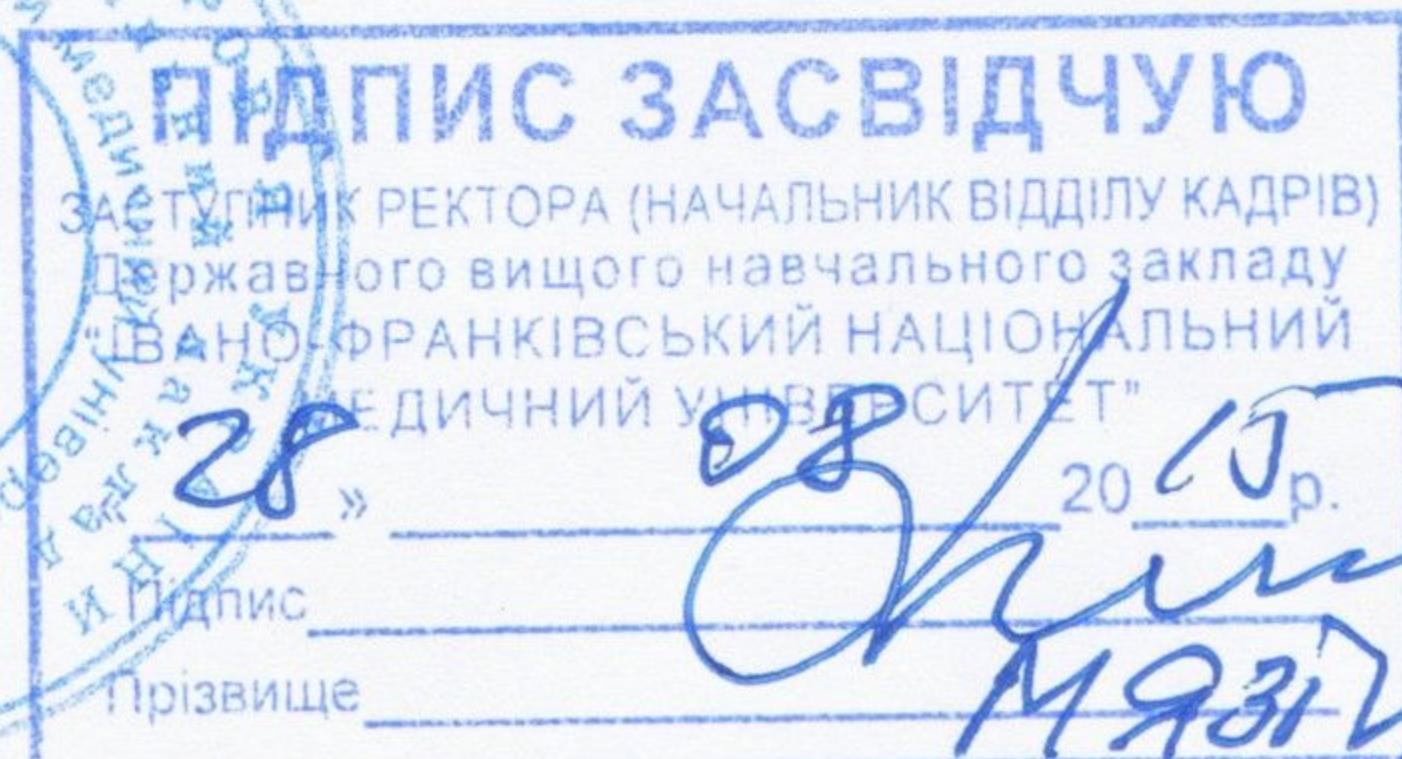
8. Висновки.

Наукова праця Багрій Віти Володимирівни на тему: «Неускладнена гіпертонічна хвороба у жінок, клініко-діагностичне значення поліморфізму гена ППАР- γ та плазмової концентрації судинорухових пептидів» є закінченою, самостійно виконаною науковою працею, в якій вирішено актуальне питання кардіології, що стосується значення генетичних аспектів розвитку і прогресування гіпертонічної хвороби. У дисертації вперше встановлено, що у жінок менопаузального періоду, хворих на гіпертензивну хворобу 2/3 таких осіб є носіями генотипу Pro/Pro ППАР- γ , третина таких хворих є носіями алелю Ala, при якому ймовірність виникнення ГХвища майже у 2 рази. Автором розроблені нові критерії діагностики діастолічної серцевої недостатності, що відкриває можливість докращення діагностики ГХ та її лікування.

За актуальністю теми, оригінальним науково-методичним підходом, об'ємом проведених досліджень, науковою новизною і практичною значущістю, рівнем впровадження - дисертація Багрій В.В. відповідає вимогам Положення «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року за №567.

Автор дисертації - Багрій В.В. заслуговує присвоєння їй наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.11 – кардіологія.

Професор кафедри внутрішньої медицини №2 та медсестринства
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»



Заслужений діяч
науки і техніки України
доктор медичних, професор
Середюк Нестор Миколайович

