

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Князькової Ірини Іванівни на дисертаційну роботу Палагнюк Ганни Олександрівни на тему: «Діагностичне і прогностичне значення поліморфізму гена ендотеліну-1, рівнів вазоактивних пептидів та відповідних дерматогліфічних показників у чоловіків, хворих на гіпертонічну хворобу», представленій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.11 – кардіологія

### I. Актуальність дисертації, її зв'язок з державними та галузевими програмами

Артеріальна гіпертензія (АГ) є одним з найпоширеніших захворювань у всьому світі, яким, за оцінками експертів, страждає майже одна четверта частина дорослого населення планети, і є провідною причиною смертності і непрацездатності в світі. Поширеність АГ в найближчі роки буде зростати. Якщо в 2000 р. в світі серед дорослого населення АГ становила 26,4%, то, за даними аналізу, виконаного Kearney Р.М. і співавт., до 2025 р. досягне 29,2%. В абсолютних цифрах число хворих АГ з 2000 по 2025 р зросте з 972 млн до 1 млрд 56 млн чоловік. Особливістю перебігу гіпертонічної хвороби (ГБ), часто є безсимптомність або малосимптомність. У зв'язку з цим, незважаючи на простоту діагностики ГХ, вона часто тривалий час не діагностується, іноді аж до розвитку ускладнень. В той же час своєчасне проведення антигіпертензивної терапії дозволяє зменшити число ускладнень ГБ, смертність від інфаркту міокардів, мозкового інсульту, розвитку хронічної серцевої недостатності.

Як відомо, АГ вважають мультифакторіальним захворюванням, у виникненні якого ключову роль відіграють взаємодії між генетичними факторами і зовнішнім середовищем. Генетична компонента відіграє значну роль у розвитку ГБ, в зв'язку з чим в останні роки активно ведуться дослідження, присвячені ідентифікації генів-кандидатів, асоційованих з цим захворюванням. Ряд проєктів, спрямованих на вивчення генома людини, в числі яких The SNP Consortium

(TSC), the Human Genome Project (HGP), Map Map project і The 1000 Genomes projects, дозволили виявити нові гени, локалізувати SNP (Single Nucleotide Polymorphism) в геномі людини і створити інформативні бази даних, що сприяють подальшому вивченню поліморфізмів, асоційованих з різною патологією.

Серед генних поліморфізмів, асоційованих з розвитком і прогресуванням серцево-судинних захворювань, провідні позиції займають поліморфні варіанти генів ренін-ангіотензин-альдостеронової і ендотелінової систем, залучених в регуляцію діяльності серцево-судинної системи. До теперішнього часу накопичено безліч даних про асоціацію поліморфізмів зазначених генів з інфарктом міокарда, артеріальну гіпертензію, гіпертрофією лівого шлуночка, гіпертрофічною кардіоміопатією, судинними ускладненнями цукрового діабету. Однак дані досить суперечливі, що може бути обумовлено істотним впливом факторів середовища на прояв поліморфізмів.

Разом з тим, аналіз літератури показав, що дослідження, спрямовані на вивчення поліморфізмів, асоційованих з розвитком патології серцево-судинної системи, в нашій країні нечисленні, і дане питання потребує більш детального вивчення. Слід відзначити, що генотип, що переважає в одній популяції може виявитися мінорним в іншій. Це робить дослідження для кожної етнічної і популяційної групи унікальними і значущими. Одним з найменш дослідженим є SNPs гена, що кодує ET-1 (Lys198Asn) та його відповідні плазмові рівні. До антагоністів ET-1 належать багато речовин, один з яких - вазодилататор С-натрійуретичний пептид (СНУП), відкритий відносно недавно, визначення якого також може слугувати показником важкості перебігу ГХ та розвитку ХСН.

В той же час, у практиці лікаря пацієнт не завжди має можливість виконати генетичне дослідження, у зв'язку з чим актуальним є пошук більш простих та менш дорогих методів встановлення поліморфних варіантів гена ET-1.

Можливість раннього розпізнавання та прогностичної оцінки фенотипічних проявів генотипу - одна з провідних складових оптимізації життєдіяльності людини: профілактики захворювань і вибору засобів і методів лікування. Дер-

дерматогліфіка, як наука, є, звичайно, добре відомим методом діагностики деяких захворювань, проте в світлі ГХ дерматогліфи є ще досить маловивченим як в Україні так і за кордоном. У перспективі, поряд з основними ідентифікаційними методами, роздільна здатність методу дерматогліфіки може стати більш ефективною і значущою.

Враховуючи високе соціальне значення проблеми ГХ взагалі, а саме те, що хворіють в основному люди працездатного віку, та АГ як причини розвитку ХСН, вчасна діагностика, визначення прогнозу перебігу захворювання та попередження розвитку ускладнень є актуальним питанням сучасної медицини. Зазначене вище вказує на актуальність та своєчасність задачі, яка вирішувалась здобувачем.

Дане дисертаційне дослідження є складовою частиною планової науково-дослідної роботи Використання генетичних і нейрогуморальних чинників для прогнозування перебігу та ефективності лікування серцево-судинних захворювань» (номер держреєстрації 0111U010415) кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України, а дисертант є співвиконавцем названої роботи.

## **II. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Дизайн дослідження включав вивчення проблеми на декількох рівнях складності, починаючи з визначення частоти варіантів генотипів та алелей генів, які відіграють важливу роль у патогенезі артеріальної гіпертензії та хронічної серцевої недостатності, плазмової концентрації вазоактивних пептидів, а також особливостей дерматогліфічних показників пальців кистей у чоловіків без серцево-судинних захворювань, до порівняльного аналізу цих показників з даними чоловіків хворих на гіпертонічну хворобу мешканців Подільського регіону України.

Клінічне дослідження ґрунтується на комплексному обстеженні 191 особи чоловічої статі, мешканців Подільського регіону України, віком 40–60 років, з яких 79 чоловіків (середній вік  $49,01 \pm 0,73$  років) без патологічних змін

з боку серцево-судинної системи та ГХ, зокрема склали контрольну групу, та 112 чоловіків хворих на гіпертонічну хворобу, середній вік  $49,66 \pm 0,40$  років, яких в залежності від стадії ГХ та наявності ХСН було розподілено на дві групи. В першу групу увійшли 62 пацієнта з ГХ II стадії і в другу – 50 пацієнтів з ГХ III стадії, ускладненою ХСН II А ст., репрезентативних за віком. Усі обстежені чоловіки спостерігались амбулаторно або знаходились на лікуванні в терапевтичному та неврологічному відділеннях ВОСКДРЗН МОЗ України, Військово-медичному клінічному центрі Центрального регіону Військово-повітряних сил України (м. Вінниця) у період з грудня 2013 року по червень 2014 року.

При діагностиці та лікування були дотримані чинні національні і міжнародні стандартизовані підходи. Дослідницька програма включала загальноклінічні, біохімічні, інструментальні (електрокардіографія, ехокардіографія в одномірному та двомірному режимах з кольоровою, імпульсною доплерографією), імуноферментний аналіз для вимірювання концентрації ET-1 та СНП в плазмі крові, генетичні (визначення поліморфних варіантів генів ET-1 та рецептора ангіотензину II першого типу), дерматогліфічне обстеження пальців обох кистей (за методикою Т. Д. Гладкової).

Обсяг досліджень і кількість обстежених осіб достатній для проведення достовірного аналізу отриманих даних і його узагальнення. Достовірність отриманих результатів, сформульованих висновків та рекомендацій забезпечена використанням у дослідженні сучасних статистичних методів обробки результатів. Представлено аналіз отриманих автором результатів з даними вітчизняної і закордонної літератури. Опубліковані по темі дисертації роботи цілком відображають матеріал, приведений у розділах дисертації.

У роботі представлені дані про апробацію дисертації на міжнародних конгресах, науково-практичних конференціях, впровадження в практику установ охорони здоров'я та навчальний процес студентів медичних університетів.

Усе це підтверджує вірогідність положень, висновків і практичних рекомендацій, що випливають з дослідження.

**Наукова новизна** даного дисертаційного дослідження полягає в тому, що вперше проведено одночасне дослідження поліморфізму гена ET-1 Lys198Asn, вмісту ET-1 та C-натрійуретичного пептиду в плазмі крові та пов'язаних з ними структурно-функціональних змін міокарда, паралельно з визначенням особливостей дерматогліфічних малюнків у чоловіків, віком 40–60 років, без серцево-судинних захворювань, а також у хворих з ГХ неускладнену та ускладнену ХСН ІІА ст., відповідного віку, мешканців Подільського регіону України.

Автором встановлено, що носійство алелі Asn (заміна (Lys) лізину на (Asn) аспарагін в положенні 198 поліпептидного ланцюга) асоціюється з більш високим вмістом ET-1 в плазмі крові, з більш високим ступенем (3) АГ, проатерогенними змінами ліпідного спектру крові та більш вираженими структурно-функціональними змінами міокарда та системної гемодинаміки в порівнянні з володарями генотипу Lys/Lys гена ET-1. Вперше визначено співвідношення генотипів гена ET-1 та генотипів гена AT1-R у чоловіків групи контролю та у пацієнтів з ГХ різного ступеня важкості, а саме, ускладненою ХСН. Не виявлено різниці у плазмовій концентрації ET-1 та СНП при різному ІМТ, що надає їм перевагу у використанні в якості маркерів оцінки тяжкості захворювання при обстеженні великих контингентів чоловіків.

Розроблені автором теоретичні положення є підставою для **практичного застосування результатів** дослідження.

Науково-практична цінність дисертації визначається тим, що отримані дисертантом результати дозволили розробити прогностичні моделі для встановлення ймовірного ризику розвитку ГХ та ХСН на її фоні, на основі використання факторів ризику, що модифікуються (паління, індекс маси тіла) та тих, що не модифікуються (вік, зріст, наявність обтяженої спадковості по АГ, дерматогліфи) у чоловіків 40–60 років, мешканців Подільського регіону України. Розраховані високочутливі та високоспецифічні формули вірогідного носійства певного генотипу гена ET-1 на основі дерматогліфічних малюнків пальців обох кистей для пацієнтів з ГХ ІІ ст. та у осіб без серцево-судинної патології. При наявності обмежень щодо визначення структурної організації гена ET-1

Lys198Asn під час проведення масових скринінгових обстежень осіб чоловічої статі, запропоновані межові рівні ET-1 в плазмі крові, для орієнтовного визначення стадії ГХ.

### **III. Оцінка змісту дисертації.**

Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою, досить ілюстрована, матеріал викладений чітко і послідовно. Дисертаційна робота викладена на 192 сторінках друкованого тексту українською мовою. Робота складається із вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу одержаних результатів, висновків та практичних рекомендацій, містить 44 таблиці та 17 рисунків. Список використаних джерел складається із 219 бібліографічних описів кирилицею та латиною.

Вступ є структурованим згідно чинних вимог, конкретно сформульовані актуальність проблеми, мета і завдання дослідження, об'єкт та предмет наукового пошуку, представлені методи дослідження, викладені наукова новизна та практичне значення одержаних результатів і інші підрозділи вступу. Зауваження до вступу відсутні.

Розділ огляду літератури складається з трьох підрозділів, має назву, яка тісно перекликається з метою роботи. Завдання цього розділу – обґрунтування актуальності теми, мети та завдань дослідження. В першому підрозділі висвітлена роль поліморфізму гена ET-1 і його вмісту в плазмі крові в розвитку ГХ та ХСН. Другий підрозділ присвячений значенню поліморфізму гена AT1-R в розвитку серцево-судинної патології. Третій підрозділ містить інформацію про дерматогліфи як маркери ГХ та ХСН. Дисертантом визначені невирішені питання і обґрунтована необхідність проведення дисертаційного дослідження.

У другому розділі дається повна характеристика обстежених осіб і принцип розподілу пацієнтів на досліджувані групи. Представлений дизайн дослідження, загальноклінічні методи діагностичних обстежень, клініко-лабораторні та інструментальні (електрокардіографія, ехокардіографія, велоергометрія) методи дослідження, імуноферментний аналіз, сучасних технологій генотипування, а також дерматогліфічне обстеження пальців рук за методикою Т. Д. Глад-

кової (1964 р.). В роботі застосовані сучасні методи статистичної обробки результатів досліджень, які дозволяють вірогідно оцінити отримані дані.

В розділі 3 представлений аналіз особливостей розподілу частот алелей і генотипів за поліморфізмом *Lys198Asn* гена ET-1 і за поліморфізмом *A1166C* гена AT1-R та вмісту ET-1 і його антагоніста - С-натрійуретичного пептиду в плазмі крові, та пов'язаних з ними структурно-функціональних змін міокарда, а також а також дерматогліфічних показників пальців обох кистей у чоловіків без серцево-судинних захворювань віком 40-60 років, мешканців Подільського регіону України.

Встановлено, що в даній когорті чоловіків переважає генотип *Lys/Lys* та алель *Lys* гена ET-1. Доказано, що у носіїв алелі *Asn* рівні проатерогенних фракцій ліпідів (ХС, ЛПДНЩ, ЛПНЩ та ТГ) крові достовірно вищі, а антиатерогенних (ЛПВЩ) нижчі, в порівнянні з носіями генотипу *Lys/Lys*. У чоловіків без серцево-судинних захворювань – носіїв алелі *Asn* визначено достовірно вищі плазмові концентрації ET-1 і СНП в порівнянні з носіями генотипу *Lys/Lys*. За даними коефіцієнту СНП/ET-1, який відбиває баланс концентрацій вазодилітатор/вазоконстриктор, при генотипі *Lys/Lys* у чоловіків контрольної групи визначались достовірно вищі значення, ніж у носіїв алелі *Asn*.

Завдяки методу дискримінантного аналізу було розраховано формулу можливого носійства певного генотипу гена ET-1 у чоловіків без серцево-судинних захворювань, яку можна використовувати для скринінгової діагностики при профілактичних оглядах з метою визначення носіїв алелі *Asn*, які потребують більш активних заходів щодо первинної профілактики ГХ.

В розділі 4 представлено аналіз поліморфних варіантів генотипів генів ET-1 та AT1-R, вмісту ET-1 і СНП в плазмі крові, а також дерматогліфічних малюнків у чоловіків з ГХ різної стадії, мешканців Подільського регіону України.

Встановлено, що у пацієнтів з ГХ за частотою носійства переважає генотип *Lys/Lys* та алель *Lys* гена ET-1, але достовірно не відрізняється між досліджу вальними групами. При цьому у чоловіків з ГХ вміст ET-1 та СНП в плаз-

мі крові статистично вище, а коефіцієнт СНП/ЕТ-1 - нижче, ніж в групі контролю при носійстві будь-якого поліморфного варіанту гена ЕТ-1.

Відзначено, що у чоловіків - носіїв алелі Asn показники проатерогенних фракцій ліпидограми достовірно вищі, а рівень ЛПВЩ вірогідно нижче, ніж у носіїв генотипу Lys/Lys. Рівень антагоніста ЕТ-1 - С-натрійуретичного пептиду у чоловіків з ГХ вірогідно вищий, ніж в групі контролю при носійстві усіх варіантів генотипу гена ЕТ-1. Продемонстровано, що у хворих, які є носіями алелі Asn як з неускладненою ГХ, так і з ускладненою ХСН ІІА ст. – рівень СНП вірогідно вищий ніж у носіїв генотипу Lys/Lys. Аналіз плазмової концентрації СНП у чоловіків з ГХ при різному ІМТ різниці не виявив. Значення коефіцієнту СНП/ЕТ-1 як показника балансу вазодилітатор/вазоконстриктор у чоловіків з ГХ різної тяжкості як у носіїв генотипу Lys/Lys так і алелі Asn був достовірно нижче у осіб з ГХ, ніж в контролі, проте не визначено вірогідної різниці у співвідношенні пептидів (СНП/ЕТ-1) між чоловіками з ГХ неускладненою та ускладненою ХСН ІІА ст.

В розділі 5 автором визначено особливості центральної та внутрішньосерцевої геодинаміки, а також параметри структурно-функціонального стану лівого шлуночка при поліморфних варіантах генотипів гена ЕТ-1, при різних плазмових рівнях ЕТ-1 і СНП у хворих з ГХ ІІ ст. та у пацієнтів з ГХ ІІІ, ускладненою ХСН ІІА ст. Відзначено, що носійство алелі Asn у чоловіків з ГХ різної тяжкості асоціюється з більш вираженими структурно-функціональними змінами міокарда, ніж у пацієнтів з генотипом Lys/Lys гена ЕТ-1.

В розділі аналізу та узагальнення результатів дослідження підведені підсумки проведеного дослідження. Ґрунтуючись на отриманих результатах дослідження, автор порівнює їх із відомими на сьогодні даними вітчизняних та зарубіжних науковців з відповідної проблематики, наводить принципові фрагменти аналізу власних досліджень, звертає увагу на значення отриманих важливих наукових результатів.

Застосований метод статистичного аналізу отриманих результатів сумнівів не викликає. Всі розділи дисертації написані гарною літературною мовою.



Висновки є обґрунтованими, цілком впливають до змісту дисертації, поставленої мети та завдань. Наведені практичні рекомендації щодо використання результатів дослідження у практичній діяльності цілком конкретні і можуть впроваджуватись у відповідних лікувальних закладах.

Особливе значення мають: висновок 5, в якому відзначено прогностичні критерії перебігу ГХ, показників проатерогенних фракцій ліпідного спектру крові, структурно-функціональних змін міокарда та системної геодинаміки в залежності від носійства різних варіантів гена ET-1 (Lys198Asn), а також висновок 6, в якому представлено моделі орієнтовного визначення носійства поліморфних варіантів гена ET-1 (Lys198Asn) за допомогою дерматогліфів пальців кистей

Список джерел літератури оформлений відповідно до чинних вимог, відображає стан наявної інформації з даного питання за останні роки.

Автореферат даної дисертації є повністю відповідним до її змісту.

Вважаю, що дане дисертаційне дослідження має крім наукового медичного відчутне соціальне значення, оскільки розглядає питання оптимізації діагностичних підходів та прогнозуванні перебігу ГХ у чоловіків працездатного віку, що дозволяє вживати більш активні заходи щодо вторинної профілактики ГХ.

Разом з тим є декілька зауважень, в саме відсутні літературні посилання на рис.1.2, в ряді фрагментів розділу 4 є перевантажені таблиці, констатуються факти без літературних посилань, в роботі мають місце поодинокі описки. Але в цілому ці зауваження не впливають на зміст роботи та отримані результати.

При рецензуванні роботи виникли такі запитання:

1. Яким чином Ви встановлювали саме мешканців Подільського регіону та виключали інших?

2. На якому рівні практичної ланки охорони здоров'я Ви пропонуєте використовувати рекомендації щодо визначення межових рівнів ET-1 для вдосконалення діагностики стадії ГХ?

3. В яких ще роботах вивчались дерматогліфічні показники у пацієнтів з ГХ, і чи вони відповідають отриманим даним?

## ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Палагнюк Ганни Олександрівні на тему: "Діагностичне і прогностичне значення поліморфізму гена ендотеліну-1, рівнів вазоактивних пептидів та відповідних дерматогліфічних показників у чоловіків, хворих на гіпертонічну хворобу" є завершеною, самостійною роботою, відрізняється своєю актуальністю, в якій отримані нові, науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну науково-прикладну задачу, яка має суттєве значення для розділу кардіології – удосконалення діагностики стадії та прогнозування перебігу ГХ у чоловіків, а також підвищення діагностичної цінності визначення ET-1 як маркера при проведенні наукових та діагностичних досліджень, шляхом встановлення носійства поліморфних варіантів гена ET-1 (Lys198Asn), та відповідних плазмових концентрацій ET-1, рівнів СНП, і використанням дерматогліфів пальців кистей.

За актуальністю теми, обсягом дослідного матеріалу, організацією дослідження, науковою новизною та значущістю висновків і практичних рекомендацій робота є відповідною до вимог п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 № 567, щодо кандидатських дисертацій, Палагнюк Ганна Олександрівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.11 – кардіологія.

Професор кафедри клінічної фармакології  
Харківського національного  
медичного університету,  
доктор медичних наук, професор



І.І. Князькова