

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора кафедри внутрішньої медицини №3 ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» Коваль Олени Акіндинівни на дисертаційну роботу Запровальної Ольги Євгеніївни «Антитромбоцитарна терапія ішемічної хвороби серця: патогенетичні аспекти, ризики та діагностично-терапевтична стратегія», подану на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.11 - кардіологія.

Актуальність теми дослідження. Підвищення ефективності лікування ішемічної хвороби серця (ІХС), запобігання розвитку гострих серцево-судинних випадків, як основної причини смертності, є однією з найактуальніших проблем медицини. Антитромботична терапія при ішемічній хворобі серця визначає рішення головного питання – профілактики тромботичних серцево-судинних ускладнень. Визнано, що недостатня ефективність лікування при різних проявах атеросклерозу може бути пов'язана з недостатньою ефективністю антитромбоцитарних препаратів і може мати вирішальне значення для розвитку атеротромботичних випадків, впливати на перебіг захворювання та показники серцево-судинної смертності. В той же час, викликають активну дискусію можливі механізми розвитку та стабільність резистентності до антиагрегантів. Недостатня чутливість до антитромбоцитарної терапії може бути пов'язана як з фармакодинамікою препаратів, так і з індивідуальними особливостями хворого, обумовлена як тимчасовими порушеннями, так і генетично детермінованими механізмами. Це питання сьогодні викликає міжнародні дискусії щодо подовження строків комбінованої терапії, її складу, а також, особливо, після отримання перших результатів дослідження COMPASS у серпні 2017 року, – включення до її складу поряд з АСК прямих пероральних антикоагулянтів. Тому представлена

робота, яка розробляє питання підвищення ефективності антитромбоцитарної терапії при ІХС є актуальною.

Результати проведеного дослідження дозволяють з нових позицій оцінити ризики виникнення несприятливих серцево-судинних подій та запропонувати диференційований підхід до призначення антитромбоцитарних препаратів при ІХС.

Науково-теоретичне значення проведеного дослідження полягає в глибокому багатобічному ретельному вивченні механізмів розвитку резистентності до антитромбоцитарних препаратів та розробці концепції антитромбоцитарного лікування при ІХС з урахуванням тромботичного і геморагічного ризиків. Особливу увагу привертають дослідження генетичної детермінованості розвитку резистентності, які були проведені вперше в Україні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана в межах трьох науково-дослідних робіт відділу атеросклерозу та ІХС ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої Національної академії медичних наук України»: «Вивчити роль імунзапальної активації та оксидативного стресу у розвитку гемоваскулярних порушень і в ефективності антитромбоцитарної терапії при ішемічній хворобі серця» (номер державної реєстрації 0108U000026, термін виконання 2008-2010 рр.), «Вивчити фармакогенетичні механізми резистентності до антитромбоцитарних препаратів при ішемічній хворобі серця» (номер державної реєстрації 0111U001124, термін виконання 2011-2013 рр.), «Вивчити метаболічні та генетичні механізми формування тромботичних порушень при ішемічній хворобі серця в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу» (номер державної реєстрації 0114U001166, термін виконання 2014-2016 рр.). Здобувач як відповідальний виконавець, брала участь у формуванні концепції вказаних робіт, самостійно розробляла дизайн дослідження, обирала методології та методи дослідження, проводила обробку та аналіз отриманих результатів,

представляла їх у вигляді публікацій, заявок на корисну модель.

Рівень обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, що сформульовані в дисертації, їх вірогідність.

Значна кількість та якість клінічних, інструментальних та лабораторних досліджень, які поєднані в окремі патогенетичні блоки: генетичний, функціональний, прозапальний тощо, вказують на високу ступінь обґрунтованості і достовірності основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій.

Комплексне клініко-інструментальне та генетичне обстеження достатньої кількості пацієнтів на ІХС (382 хворих), що були верифіковані за стандартними критеріями, достатня кількість осіб контрольної групи (62 особи) дозволяють вважати обґрунтованими наукові положення, що базуються на отриманих результатах. Тривалий термін спостереження (12 до 60 місяців, в середньому $(36 \pm 8,7)$ місяців) є достатнім для загальної оцінки тяжкості перебігу захворювання.

Методи дослідження, що були використані здобувачем, є сучасними, високо інформативними і цілком відповідають меті і завданням дослідження. Дисертаційну роботу виконано на високому методичному рівні з застосуванням високоінформативних лабораторних методів дослідження, які включають метод полімеразної ланцюгової реакції для дослідження алельного поліморфізму генів, визначення імунозапальних показників і показників оксидативного стресу; визначення рівню клубочкової фільтрації за методом MDRD, визначення рівнів нітратів та нітритів, визначення глюкози натще, рівню глікогемоглобіну, НОМА-індексу. Оцінювались морфологічні особливості тромбоцитів, агрегація тромбоцитів (індукована АДФ, адреналіном, арахідоною кислотою), визначався 11-дігідро-тромбоксан В2 у сечі. Інструментальні методи обстеження включали навантажувальний тредміл-тест; аналіз складу тіла за допомогою біоелектричної імпедансометрії. В процесі спостереження оцінювалась частота виникнення гострих серцево-судинних подій,

летальних випадків, частота госпіталізацій, кількість втручань на коронарних артеріях та геморагічних ускладнень.

Статистична обробка отриманих даних проведена за допомогою пакета статистичних програм «Statistica 8,0», Microsoft Office Excel з використанням багатофакторного регресійного аналізу, параметричної та непараметричної оцінки груп та їх порівняння, оцінки перебігу захворювання за методом Каплана-Мейєра. Використання вище наведеного математичного і статистичного апарату дозволило автору забезпечити високу вірогідність отриманих результатів, на підставі яких було обґрунтовано основні положення роботи, висновки та практичні рекомендації, розроблено алгоритм визначення прогнозу і ризику геморагічних та тромботичних ускладнень.

Представлені автором висновки повністю відповідають меті і завданням дослідження.

Дисертаційна робота вірно побудована у методологічному плані. Аналіз дисертаційних даних проведено з використанням достатньої кількості літературних джерел. Детально викладено клінічну характеристику, хворих, методи та результати дослідження. Висновки та практичні рекомендації являють собою логічний наслідок виконаного глибокого аналізу фактичних результатів у процесі дослідження з урахуванням останніх досягнень медичної науки.

Широке впровадження результатів дослідження у практичну діяльність лікувальних, учбових та наукових закладів, підтверджено актами впровадження.

Результати дослідження були впроваджені в клінічну практику роботи ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України», Тернопільської обласної лікарні, КЗ «Херсонський обласний кардіологічний диспансер», Полтавської обласної лікарні, Чернігівської обласної клінічної лікарні, Тернопільської університетської лікарні, Закарпатського обласного клінічного кардіологічного диспансеру,

Хмельницької обласної клінічної лікарні, Львівської обласної клінічної лікарні.

Наукова новизна отриманих результатів

Здобувачем представлено нову концепцію прогнозування ризику виникнення серцево-судинних ускладнень при стабільних формах ІХС на підставі комплексної оцінки показників тромбоцитарного гемостазу та їх взаємозв'язку із клініко-анамнестичними, антропометричними, метаболічними характеристиками та поліморфізмом генів циклооскигенази-1 і тромбоцитарних рецепторів. За допомогою регресійного аналізу виділено найважливіші фактори, що впливають на перебіг ІХС, такі як висока реактивність тромбоцитів за результатами індукованої агрегації, вісцеральне ожиріння, наявність перенесеного інфаркту міокарду та ЦД 2 типу в анамнезі. Досліджено взаємозв'язок біохімічних, функціональних та морфофункціональних критеріїв аспіринорезистентності із клініко-анамнестичними факторами та оцінено їх прогностичне значення.

Проведено дослідження дозволило доповнити наукові дані про вплив імунозапальних факторів та оксидативного стресу на показники тромбоцитарного гемостазу. Встановлено, що у хворих на ІХС на тлі терапії АСК посилення проявів оксидативного стресу асоціювалось з прогресуючим підвищенням активності АДФ- і арахідонат-індукованої агрегації тромбоцитів. Доповнено наукові дані щодо взаємозв'язку функціонального стану ендотелію із морфофункціональними характеристиками тромбоцитів при ІХС та вікові особливості цих процесів.

Здобувачем встановлено, що у хворих з ІХС надмірна вага і абдомінальне ожиріння, незалежно від наявності ЦД, сприяють підвищенню агрегаційної активності тромбоцитарного гемостазу та погіршують прогноз перебігу ІХС.

На підставі аналізу особливостей характеристики тромбоцитів при

ЦД 2 типу розроблено підхід до призначення антитромбоцитарної терапії.

Здобувачем вперше проаналізовано частоту алельного поліморфізму гена циклооксигенази-1 та генів тромбоцитарних рецепторів: C50T гена PTGS1, T1565C гена тромбоцитарного рецептора ITGB3, T924C гена TBXA2R, C807T гена глікопротеїна Іа ITGA2 у мешканців Харківського регіону, результати співставлені з частотою їх наявності в європейській популяції та встановлено вплив на перебіг ІХС наявності мінорної алелі зазначених генів.

Практичне значення отриманих результатів

Здобувачем розроблено комплексний підхід до прогнозування ризику тромботичних і геморагічних ускладнень антитромбоцитарної терапії хворих при лікуванні стабільних форм ІХС.

Розроблено диференційований підхід до призначення антитромбоцитарної терапії у пацієнтів з ІХС в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу з урахуванням морфологічних властивостей тромбоцитів на підставі оцінки тромбоцитарних індексів, але ця пропозиція є дискусійною, виходячи з найсучасніших світових досягнень.

Результати молекулярно-генетичного дослідження дозволяють виявити групу пацієнтів з можливим майбутнім формуванням аспіринорезистентності.

Розроблено диференційований підхід до призначення антитромбоцитарної терапії з урахуванням тромботичного і геморагічного ризику пацієнта, що включає як оцінку клінічних параметрів, антропометричних факторів, лабораторних маркерів аспіринорезистентності, так і генетичні маркери. Цей метод є особливо актуальним для впровадження у медичні заклади для своєчасного визначення пацієнтів високого ризику для подальшого диспансерного нагляду за ними та своєчасної корекції терапії.

Оцінка змісту дисертації та її завершеності

Дисертація Запровальної О.Є. викладена на 362 сторінках машинопису, з них основний текст складає 305 сторінок, що відповідає вимогам атестаційної комісії МОН України до докторських дисертацій. Дисертаційна робота побудована за загально прийнятим планом і складається зі вступу, розділу огляду літератури, восьми розділів власних спостережень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел літератури, який включає 474 публікацій. Робота ілюстрована 55 рисунками та містить 69 таблиць.

У вступі обґрунтовані актуальність обраної теми, стан і значення наукової проблеми. Мета і завдання дослідження сформульовані чітко, послідовно надані загальна характеристика роботи, висвітлені наукова новизна і практичне значення результатів дослідження.

В огляді літератури автор висвітлює основні механізми розвитку атеротромботичних ускладнень, механізми дії антиагрегантів та умови формування недостатньої ефективності антитромбоцитарної терапії, досліджує різні ланки цього процесу: імунозапальну активацію, оксидативний стрес, ендотеліальну дисфункцію, метаболічні порушення та вплив генетичних факторів. Здобувачем проаналізовано причини недостатньої ефективності антиагрегантів, співставлено ефективність різних методів її визначення, приведено різні підходи до її оцінки. Також приведено невирішені питання режиму призначення антиагрегантів в залежності від наявності аспіринорезистентності та інших тромботичних та геморагічних ризиків.

У другому розділі наведена розгорнута клініко-інструментальна характеристика обстежених хворих на ІХС, описані критерії включення та виключення до дослідження, детально прописаний дизайн дослідження. У розділі описано методики, які використовувала автор, обґрунтовано їх вибір, детально описані методи статистично-математичного аналізу

отриманих результатів.

У третьому розділі, присвяченому аналізу частоти несприятливих подій, що були зафіксовані за період спостереження, проводиться детальна характеристика груп пацієнтів в залежності від перебігу захворювання. Здобувач проводить порівняльний аналіз обстежених груп за клініко-анамнестичними, демографічними та лабораторними показниками. Детально та послідовно порівнюючи всі характеристики, що були застосовані у дослідженні, здобувач відбирає фактори, що сприяють розвитку первинних та вторинних кінцевих точок, використовуючи сучасний статистичний аналіз. Також за допомогою ROC-аналізу здобувач відбирає найбільш чутливі та специфічні критерії для визначення ризику подальшого несприятливого перебігу ІХС.

В четвертому розділі розглянуто морфофункціональні характеристики показників тромбоцитарного гемостазу. Здобувач проводить детальну оцінку морфологічних характеристик тромбоцитів, приводить результати досліджень агрегаційних властивостей тромбоцитів. Проаналізовано варіабельність дії АСК на агрегаційні властивості тромбоцитів. Приводяться описи власних методів, підтверджених патентами, які дозволяють додатково оцінити адекватність антитромбоцитарної дії АСК. У розділі також показано принципи розподілу обстежених за критерієм реактивності тромбоцитів. Приведено особливості морфологічних характеристик у резистентних та чутливих пацієнтів та їх зв'язок з агрегаційними характеристиками. Проаналізовано вплив клінічної аспіринорезистентності на перебіг захворювання, що є дуже корисним з клінічної точки зору. Встановлено, що розвиток несприятливих серцево-судинних подій у хворих на фоні прийому АСК, значно підвищує подальший ризик ускладнень та погіршує прогноз.

В п'ятому розділі проаналізовано вплив основних чинників атеросклерозу та атеротромбозу на реактивність тромбоцитів. Послідовно розглядається взаємозв'язок морфологічних та агрегаційних властивостей

тромбоцитів із показниками ліпідного обміну, функціонального стану ендотелію, імунозапальної активності, оксидативного стресу, розглядаються механізми впливу чинників атеросклерозу та атеротромбозу на реактивність тромбоцитів, участь у формуванні резистентності до АСК.

В шостому розділі розглядається вплив клініко-анамнестичних факторів на реактивність тромбоцитів, аналізується вірогідність участі цих факторів у варіабельності антитромбоцитарної дії АСК. Встановлено, що вікові особливості високої реактивності тромбоцитів асоційовані з показниками ендотеліальної дисфункції, а гендерні розбіжності пов'язані з метаболічними порушеннями (глікогемоглобін, сечова кислота) та фібриногеном. У розділі розглянуто вплив супутньої терапії (нестероїдних протизапальних препаратів) на агрегаційну здатність тромбоцитів при ІХС.

В сьомому розділі розглянуто особливості тромбоцитарного гемостазу при метаболічних порушеннях. Визначено, що вісцеральне ожиріння та надлишкова вага сприяють високій реактивності тромбоцитів та пов'язані із несприятливим перебігом ІХС. Дослідження особливостей тромбоцитарного гемостазу та ефективності антиагрегантної терапії при ІХС в поєднанні із ЦД 2 типу дозволило визначити прогностичну роль тромбоцитарних індексів щодо серцево-судинних ускладнень та ефективності антитромбоцитарної терапії.

Восьмий розділ присвячений генетичним факторам, що пов'язані із реалізацією антитромбоцитарної дії АСК. Вперше проаналізовано перебіг захворювання в залежності від носійства поліморфних генів. Встановлено частоту поліморфізмів генів тромбоцитарних рецепторів *TBXA2R*, *ITGA2*, *ITGB3* та циклогенази-1 *PTGS1* у хворих на ІХС. Визначено, що наявність Т-алелі гена *PTGS1* ЦОГ-1 при ІХС супроводжується вірогідним збільшенням індексу арахідонат-індукованої агрегації. Встановлено, що частота мінорного Т-алеля поліморфізму C50T (rs) 3842787 гена *PTGS1* циклооксигенази-1 (ЦОГ-1) та мінорного С-алеля поліморфізму T1565C (rs) 5918 гена *ITGB3* рецепторів тромбоцитів IIa при ІХС істотно не

відрізняється від групи контролю, але достовірно вище в групі хворих з розвитком несприятливих серцево-судинних подій. Встановлено, що пацієнти які є носіями гетерозиготних і мінорних гомозиготних генотипів *TVXA2R*, *ITGA2*, *ITGB3* и *PTGS1* мають несприятливий перебіг ІХС.

У дев'ятому розділі за допомогою багатфакторного регресійного аналізу було проведено відбір факторів, що сприяють розвитку ішемічних та геморагічних ускладнень. На підставі цих результатів розроблено шкалу тромботичного та геморагічного ризику у хронічних хворих ІХС та алгоритм призначення антитромбоцитарних препаратів, з урахуванням цієї шкали. Проаналізовано ефективність додаткового призначення клопідогрелю строком на 3-6 місяців у хворих зі стабільною стенокардією напруження з високою реактивністю тромбоцитів. Доведено доцільність додавання клопідогрелю у хворих з низькими геморагічним ризиком.

Всі розділи власних досліджень закінчуються обговоренням результатів та посиланням на публікації автора, в яких висвітлено основні положення розділів. Далі представлені розділ обговорення та узагальнення результатів дослідження, висновки та практичні рекомендації.

Дисертація написана літературною українською мовою, текст легко сприймається.

Список літератури має глибину досліджень, в основному, не більше 10 років, переважна кількість використаних джерел опублікована в останні п'ять років.

Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих роботах.

Основні положення дисертаційної роботи представлені в 80 друкованих наукових працях за темою дисертації: 33 статті, з них 22 - у виданнях, рекомендованих МОН України, 6 робіт – в закордонних виданнях, 11 статей - в інших виданнях. Автор має 8 робіт у моноавторстві, отримала 8 деклараційних патентів України на корисну модель. Представила 39 тез у матеріалах вітчизняних та закордонних конференцій.

Зауваження щодо змісту дисертації.

При вивченні дисертаційної роботи, автореферату і наукових робіт здобувача принципових зауважень не було, проте необхідно відзначити наступні недоліки:

1. В розділі клінічної характеристики обстежених слід більш детально зупинитись на опису результатів первинних та вторинних кінцевих точок з метою вірогідної оцінки впливу ступеню важкості хворих на досліджувані показники і прогноз захворювання.
2. В дисертації надмірно детально прописані методики генетичного дослідження.
3. В роботі присутні стилістичні та друкарські помилки

У порядку наукової дискусії хотілось би отримати відповіді дисертанта на наступні питання:

1. Серед імунозапальних чинників, що пов'язані з наявністю аспіринорезистентності Вами дуже мало приділено уваги CD40L. Але саме через цей ліганд здійснюється взаємодія тромбоцитів та лейкоцитів. Чи є його визначення теж доцільним для призначення подальшої подвійної терапії з включенням клопідогрелю?
2. Виходячи з того, що в своїй роботі Ви рекомендували застосовувати подвійну антитромбоцитарну терапію у хронічних хворих з високим ризиком розвитку ішемічних подій, на який термін Ви рекомендуєте такий режим терапії та чи потрібно при цьому додаткове моніторування активності тромбоцитів? Чи є перспективним застосування в цій групі поєднання АСК з малими дозами новітніх антикоагулянтів?
3. Як шкала оцінки ризиків для призначення антитромбоцитарної терапії, що запропонована Вами, співвідноситься з уже існуючими шкалами тромботичних і геморагічних ризиків?

Зазначені зауваження не є принциповими та не знижують загальної цінності дисертації як завершеної науково-дослідної роботи, виконаної на високому науково-методичному рівні.

Висновок

Дисертаційна робота Запровальної Ольги Євгеніївни *«Антитромбоцитарна терапія ішемічної хвороби серця: патогенетичні аспекти, ризики та діагностична-терапевтична стратегія»*, яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за фахом 14.01.11 - кардіологія, є самостійною і завершеною науковою роботою, в якій представлене нове рішення однієї з актуальних проблем кардіології, а саме: розроблена стратегія прогнозування перебігу ІХС та оптимізації антитромбоцитарної терапії при стабільних формах ІХС в залежності від тромботичного та геморагічного ризику.

За актуальністю, науковою новизною, сучасним методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота Запровальної О.Є. відповідає вимогам п.10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 р. щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, а сам дисертант заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.11 – кардіологія.

Офіційний опонент,

доктор медичних наук, професор,

професор кафедри внутрішньої медицини №3

ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України"



О.А.КОВАЛЬ