

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор федерального государственного
бюджетного учреждения
«Национальный медицинский
исследовательский центр
имени академика Е.Н. Мешалкина»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
академик РАН, д-р мед. наук, профессор

Караськов А. М.

2018 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации Лугачёвой Юлии Геннадьевны на тему «Взаимосвязь генетических протромботических полиморфизмов с состоянием тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки).

Актуальность темы выполненной работы

Тромбоз глубоких вен и связанная с ним тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) представляют серьезную проблему современного здравоохранения и являются наиболее частой причиной ранней инвалидизации и гибели больных. ТЭЛА относится к группе мультифакториальных заболеваний. В настоящее время ведутся активные исследования по обнаружению генетически детерминированных факторов, повышающих риск

развития ТЭЛА. Изучению полиморфизма генов системы гемостаза и генов ферментов фолатного цикла, ассоциированных с развитием ишемического инсульта, тромбоэмболии легочной артерии, тромбоза глубоких вен у взрослых пациентов посвящено большое число исследований. При этом молекулярно-генетические механизмы развития тромбофилических состояний у детей изучены в меньшей степени, особенно у пациентов с врожденными пороками сердца.

Актуальным является исследование полиморфизма генов системы свертывания крови, с точки зрения оценки риска развития сердечно-сосудистых событий у детей с врожденными заболеваниями сердца.

Диссертационная работа Лугачёвой Ю.Г. посвящена исследованию полиморфизмов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла у пациентов с функционально единственным желудочком сердца и их вкладу в развитие тромбозов, которые являются одной из сложных проблем хирургического лечения пациентов с врожденным пороком сердца.

Связь выполненной работы с планами соответствующих отраслей наук

Диссертационная работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук» Научно-исследовательского института кардиологии в соответствии с планом НИР в рамках комплексной темы «Оптимизация хирургических подходов, диагностики и профилактики осложнений на этапах гемодинамической коррекции врождённых пороков сердца с функционально единственным желудочком» (регистрационный номер 01201351077) от 23 июня 2015.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Лугачёвой Ю.Г. основное внимание уделяется проблемам тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапах гемодинамической коррекции врожденного порока.

Автором впервые представлены данные о частоте распределения полиморфизмов, ассоциированных с дисфункцией плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза: *FII* (фактор II), *FV* (фактор V), *FVII* (фактор VII), *FXIII* (фактор XIII), *FGB* (фактор I), *ITGA2* (рецептор тромбоцитов к коллагену), *ITGB3* (рецептор тромбоцитов к фибриногену), *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена I типа) у данной группы пациентов.

Впервые проведено исследование полиморфизмов, ассоциированных с нарушением активности ферментов фолатного цикла: *MTHFR 677 C>T* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTHFR 1298 A>C* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTR 2756 A>G* (B_{12} -зависимой метионинсинтазы), *MTRR 66 A>G* (метионинсинтазыредуктазы) у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

На основании результатов исследования Ю.Г. Лугачёвой сделан вывод, о том, что распределение полиморфных вариантов генов факторов системы гемостаза, а также генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца является сопоставимым с таковым в группе практически здоровых детей.

Впервые получены данные о взаимосвязи носительства генотипов гена коагуляционного фактора системы гемостаза VII (FVII) и ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1) с уровнем соответствующих факторов в плазме крови у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

При анализе уровня гомоцистеина и носительства полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с функционально

единственным желудочком сердца установлено, что носительство генотипа 677ТТ гена фермента MTHFR связано с повышением уровня гомоцистеина в плазме крови.

Автором установлено, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца ассоциировано с риском развития тромбоза на этапах хирургической коррекции порока.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Лугачёвой Ю.Г. выполнена на высоком методологическом уровне. Автором четко сформулирована цель и задачи исследования, название работы соответствует цели исследования. Для выполнения поставленных задач в исследование было включено 102 пациента с функционально единственным желудочком сердца и 89 практически здоровых детей. У пациентов с функционально единственным желудочком сердца и в группе практически здоровых детей были проведены лабораторные исследования системы свертывания крови, включая оценку показателей плазменного и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза, маркеров активации системы гемостаза. Результаты молекулярно-генетического анализа лиц, включенных в исследование, получены методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени. Анализ полученных данных проводился с помощью современных методов статистического анализа, позволяющего получить достоверные результаты, на основании которых логично сформулированы выводы, положения на защиту, практические рекомендации.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Результаты исследования, проведенного Лугачёвой Ю.Г., расширяют имеющиеся представление о молекулярных механизмах формирования и

факторах риска тромбозов, являющихся одним из осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца в межэтапном и отдалённом послеоперационном периоде. Углубление научных знаний по рассматриваемой актуальной проблеме открывает новые возможности персонализированной диагностики, прогнозирования и профилактики тромбозов у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

Общая характеристика структуры, объема и содержания диссертации

Во введении автор обосновывает актуальность темы исследования, ее научную новизну, практическую и теоретическую значимость, формулирует цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту. Цель работы сформулирована четко, задачи соответствуют поставленной цели.

Диссертационная работа имеет классическую структуру. Обзор литературы представлен по всем основным направлениям работы. Список литературы включает 154 иностранных и 51 российских источников, суммарно 205. Автор анализирует данные о частоте распределения полиморфизмов, ассоциированных с дисфункцией плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а также полиморфизмов, ассоциированных с нарушением активности ферментов фолатного цикла у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. В диссертационной работе изложены особенности функционального состояния системы гемостаза у детей, а также приведены данные об исследованиях, посвященных изучению возникновения тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

Обследовано 102 пациента с функционально единственным желудочком сердца и 89 практически здоровых детей сопоставимого возраста.

В работе представлен подробный анализ частот встречаемости полиморфных вариантов генов плазменного и тромбоцитарного звеньев системы

гемостаза, а также генов ферментов фолатного цикла и сравнение их частот встречаемости с российскими и европейскими выборками.

Автор обсуждает диагностическую значимость генетических протромботических полиморфизмов и их влияние на состояние тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. В работе получены данные о взаимосвязи носительства генотипов гена фактора FVII и PAI-1 с концентрацией соответствующих факторов в плазме крови. Выявлено, что носительство генотипа 677TT гена фермента MTHFR ассоциировано с повышением уровня гомоцистеина у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. Лугачёвой Ю.Г. проведен анализ частоты встречаемости полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза, а также генов ферментов фолатного цикла в группах пациентов с тромбозом и без тромбоза. По итогам проведенного исследования получены данные, свидетельствующие о повышенной частоте встречаемости гетерозиготного генотипа GA в гене фактора F II у пациентов с функционально единственным желудочком с тромбозом в анамнезе. В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца с тромбозом статистически значимо преобладал GG генотип гена фактора VIII.

Положения, выносимые на защиту, и выводы соответствуют содержанию работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные автором данные целесообразно использовать в клинической практике кардиохирургических отделений, занимающихся диагностикой и лечением врожденных пороков сердца. Полученные результаты молекулярно-генетического анализа полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла могут быть использованы для прогнозирования риска, своевременной профилактики и коррекции терапии тромботических осложнений

у пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапах хирургического лечения.

Характеристика публикаций автора по теме диссертации и личный вклад соискателя

Результаты работы Ю.Г. Лугачёвой обсуждались на российских и международных конференциях, представлены в 16 публикациях, в том числе в 3 научных периодических журналах, включенных в перечень ВАК РФ по медицинским наукам. Практические рекомендации обоснованы полученными результатами исследования.

Автором лично проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов факторов системы гемостаза: *FII* (фактор II), *FV* (фактор V), *FVII* (фактор VII), *FXIII* (фактор XIII), *FGB* (фактор I), *ITGA2* (рецептор тромбоцитов к коллагену), *ITGB3* (рецептор тромбоцитов к фибриногену), *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена I типа) и генов, ассоциированных с нарушением активности ферментов фолатного цикла: *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTR* (B_{12} -зависимой метионинсинтазы), *MTRR* (метионинсинтазыредуктазы), определение концентрации факторов плазменной и фибринолитической систем в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа, анализ данных литературы и историй болезни, а также самостоятельно проведена статистическая обработка полученных данных, их анализ и описание.

В целом, диссертация представляет завершённое исследование. Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

Вопросы и замечания к работе

В процессе ознакомления с диссертационной работой и изучения ее разделов возникли следующие вопросы:

1. Каким образом определялась достаточность клинической выборки?

2. По каким причинам исследование системы гемостаза проводилось не всем пациентам, участвовавшим в исследовании?

3. В работе имеются отдельные стилистические погрешности и опечатки.

Высказанные замечания не имеют принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Лугачёвой Юлии Геннадьевны на тему «Взаимосвязь генетических протромботических полиморфизмов с состоянием тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки), является научно – квалификационной работой, в которой изучена актуальная задача роли протромботических полиморфных вариантов генов, а также исследование их взаимосвязи с состоянием системы гемостаза и развитием тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. Диссертационная работа соответствует заявленным специальностям.

По актуальности темы, методическому уровню и объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов, количеству публикаций, диссертационная работа Лугачёвой Юлии Геннадьевны «Взаимосвязь генетических протромботических полиморфизмов с состоянием тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца», полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (ред. от 28.08.2017), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата

медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 14.03.03 – патологическая физиология.

Отзыв на диссертацию заслушен, обсужден и одобрен на заседании Экспертного совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н.Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 6 от 27.02.2017г.).

Заведующий отделением
лабораторной диагностики
ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина»
Минздрава России,
доктор медицинских наук

Шилова А.Н.

ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина»
Минздрава России
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15
Тел +7(383) 347 60 58
e-mail: mail@meshalkin.ru

Подпись д.м.н. Шиловой Анны Николаевны заверяю

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина»
Минздрава России, член-корр. РАН,
доктор медицинских наук, профессор



Ломиворотов В.В.