

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Шилова Сергея Николаевича на диссертационную работу Пушкарёва Бориса Сергеевича «Роль генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы. Эссенциальная артериальная гипертензия является социально значимым заболеванием, имеет тяжелые осложнения, такие как инфаркт миокарда и инсульт. В настоящее время в практической медицине применяется патогенетическая терапия эссенциальной гипертензии, обеспечивающая контроль артериального давления. Одно из широко используемых направлений в ней – воздействие лекарственными средствами на ионные механизмы, обеспечивающие сигнализацию и регуляцию процесса сокращения гладкой мускулатуры сосудов и работы сердца. Такими лекарственными средствами являются блокаторы кальциевых каналов. При этом сами кальциевые каналы отличаются большим разнообразием, связанным, в том числе, с полиморфизмом генов, кодирующих последовательность их белковых субъединиц. Вопрос о том, какое влияние оказывает генетический полиморфизм кальциевых ионных каналов, на патогенез эссенциальной гипертензии, и как изменится функционирование каналов, являющиеся фармакологической мишенью, до сих пор не изучен.

Таким образом, исследование полиморфизма генов кальциевых каналов является важным для понимания патогенеза эссенциальной гипертензии. Функционирование кальциевых каналов в их различных генетических вариациях у здоровых и при эссенциальной гипертензии позволит выявить особенности течения заболевания и разработать персонализированные стратегии его лечения и профилактики в свете полиморфных фармакологических мишеней. В связи с этим диссертационное исследование Б.С.Пушкарёва является актуальным в теоретическом и практическом отношении.

Общая характеристика содержания диссертации, ее завершенность

Диссертация имеет традиционную структуру и изложена на 170 страницах, включает введение, обзор литературы, характеристику методов

исследования, главу собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы и указатель литературы из 155 источников.

В первой главе приводит анализ отечественных и зарубежных публикаций, касающихся изучаемой проблемы. Обзор литературы представляет последовательный анализ работ о структуре кальциевых ионных каналов, их классификации, физиологической функции к роли их генетического полиморфизма при патологии.

Во второй главе дана подробная характеристика групп больных и контроля, сформированных для исследования. Представлен дизайн исследования, отражены современные молекулярно-генетические и биохимические методики исследования, тесты функциональной диагностики, используемые в работе. Диссертант провел исследование среди здоровых и больных эссенциальной гипертензией проживающих на территории Забайкальского края и провинции Хэйлунцзян (КНР). Автором использованы адекватные методы статистической обработки с использованием параметрической и непараметрической статистики, включающей: оценку взаимосвязи качественных признаков, ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом, выполнение MDR-анализа и моделирование генетических взаимодействий.

В третьей главе приведены результаты исследования полиморфизма генов кальциевых каналов CACNA1C rs1006737, CACNA1C rs112532048, CACNA1H rs11865472, CACNA1G rs11079919, CACNB2 rs143326262, KYR2 rs2490389 у резидентов Забайкальского края, сформулированы результаты по исследованию встречаемости SNP кальциевых каналов у здоровых и больных эссенциальной артериальной гипертензией, встречаемости полиморфизма генов кальциевых каналов у больных артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда левого желудочка, связи полиморфизма rs1006737 G2236129A гена CACNA1C с эссенциальной гипертензией у этнических русских и китайцев-ханьцев в северо-восточной Азии, влиянию генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов A50615794G (rs11079919) в гене CACNA1G на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией, отражены сведения о созданной модели прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов и модели прогнозирования артериальной гипертензии у здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов пациентов с артериальной гипертензией, осложнённой гипертрофией миокарда левого желудочка. Все 7 подразделов главы собственных исследований имеют четко сформулированные заключения.

В четвёртой главе обсуждены полученные результаты, дана краткая характеристика исследования. Оценены полученные результаты в сопоставлении с данными последней литературы, дана научная трактовка основных результатов собственного исследования и выявленных в ходе него ассоциаций полиморфизма кальциевых ионных каналов с эссенциальной гипертензией и его роли в патогенезе заболевания.

Научный труд Б.С.Пушкарёва соответствует пунктам паспорта специальности 14.03.03 – патологическая физиология: п.1. – исследование особенностей этиологических факторов, обуславливающих их патогенное воздействие на организм, и характера взаимодействия этих факторов с рецепторными системами организма, п.2. – изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний, п.6. – изучение состояния реактивности организма, т.н. комплекса его видовых, половых, возрастных, конституциональных и индивидуальных особенностей, определяющих характер его реагирования на раздражители, п.8. – анализ взаимоотношений общего и частного, части и целого, единства и борьбы противоположностей в динамике развития патологического процесса.

Диссертация заканчивается 7 выводами и практическими рекомендациями. Выводы сформулированы адекватно поставленным задачам и цели и чётко изложены.

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

Научные положения и выводы диссертационной работы являются обоснованными. Цель и задачи поставлены корректно. Объём исследования достаточный для решения поставленных задач. Достоверность результатов работы обеспечена глубоким изучением вопроса, достаточным объемом выборки исследуемых, использованием современных лабораторных и инструментальных методов диагностики, а также адекватного поставленным задачам статистического анализа. Положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы автором. Выводы соответствуют цели и задачам, достаточно аргументированы и сделаны на основе содержания работы.

Характеристика публикаций автора по теме диссертации

Основные положения диссертации отражены в 10 научных работах, из них 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки, 1 патент на изобретение РФ.

Опубликованные печатные работы отражают основные положения диссертации. Результаты работы доложены на конференциях разного уровня, включая региональные и международные.

Научная новизна. Диссертант впервые установил частоты генов потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1C* *G2236129A*, *CACNA1C* *G2585485A*, *CACNA1H* *G1134967A*, *CACNA1G* *A50615794G*, *CACNB2* *C18539252T*, *RYR2* *G237115840T* у здоровых жителей Забайкальского края.

Выявил, что к развитию эссенциальной гипертензии предрасполагает носительство аллели *A* и генотипа *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737). Присутствие аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A50615794G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития эссенциальной гипертензии. Доказал, что у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией к риску развития гипертрофии миокарда левого желудочка сердца предрасполагает носительство аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A50615794G* гена потенциал-управляемых кальциевых ионных каналов *CACNA1G*. Обнаружил, что носительство аллели *A* rs1006737 является рисковым для развития эссенциальной артериальной гипертензии у этнических русских и китайцев ханьского происхождения. Определил, что с повышенным риском развития эссенциальной гипертензии среди этнических русских связано носительство генотипа *AA* rs1006737, а среди китайцев-ханьцев – генотипа *GA* rs1006737. Доказал, что носительство генотипа *GG* SNP *A50615794G* *CACNA1G* обуславливает повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} в лимфоцитах у больных первичной артериальной гипертензией.

На основе полученных результатов он впервые сформулировал патогенетическую ось эссенциальной артериальной гипертензии, включающую SNP гена $\alpha_1\text{G}$ -субъединицы кальциевых ионных каналов *CACNA1G* (*A50615794G*), влекущую за собой кальциевую каналопатию, способствующую повышению внутриклеточного кальция, которое вызывает гипертонус сосудов.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе исследования получены сведения о распространенности различных аллельных вариантов *CACNA1C* *G2236129A* (rs1006737), *CACNA1C* *G2585485A* (rs112532048), *CACNA1H* *G1134967A* (rs11865472), *CACNA1G* *A50615794G* (rs11079919), *CACNB2* *C18539252T* (rs143326262), *RYR2* *G237115840T* (rs2490389) среди здоровых резидентов Забайкальского края и у больных эссенциальной артериальной гипертензией, установлена

роль отдельных SNP в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии и гипертрофии миокарда левого желудочка.

Разработанные статистические модели прогнозирования развития эссенциальной артериальной гипертензии могут послужить основой для создания новых методов предиктивной медицины. Полученные данные о полиморфизмах *CACNA1C G2236129A* (rs1006737), *CACNA1C G2585485A* (rs112532048), *CACNA1H G1134967A* (rs11865472), *CACNA1G A50615794G* (rs11079919), *CACNB2 C18539252T* (rs143326262), *RYR2 G237115840T* (rs2490389) могут использоваться для оценки риска развития эссенциальной артериальной гипертензии.

Предложен “Способ прогнозирования риска развития эссенциальной артериальной гипертензии” (Патент № 2703559 Российская Федерация).

Практические рекомендации

Результаты исследования по изучению роли генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов могут быть внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии и терапевтического профиля высших медицинских учебных заведений при изучении патогенеза гипертензий. В будущем рекомендуется создание базы данных генетического полиморфизма молекул, ассоциированных с эссенциальной артериальной гипертензией, включающие SNP генов кальциевых каналов с целью прогнозирования развития заболевания, персонифицированного подхода к его лечению и профилактике.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Представленная работа написана грамотно, лаконично, однако в работе встречаются единичные грамматические и орфографические ошибки, которые принципиального характера не имеют и не влияют на восприятие и значимость диссертационного исследования. Анализ представленной работы позволяет дать ей положительную оценку.

Необходимо отметить, что практические рекомендации сформулированы в стиле выводов; в рекомендации №3 перечислены все возможные сочетания полиморфных вариантов генов кальциевых ионных каналов, ассоциированных с развитием эссенциальной артериальной гипертензией. В данном случае целесообразно указать какие именно сочетания обладают наибольшей прогностической значимостью.

Также в ходе ознакомления с диссертацией возник ряд вопросов:

1. Во введении автор указывает, что центральное место в регуляции тонуса сосудов и сердечной деятельности занимают кальциевые каналы.

Хотя по классическим представлениям основными звенями регуляции являются нейрогуморальные системы. Как автор понимает роль кальциевых каналов в регуляции тонуса сосудов и сердечной деятельности?

2. При оценке результатов исследования учитывалась ли разница в группах (больных и здоровых; этнических русских и китайцев ханьской народности) по встречаемости таких факторов риска артериальной гипертензии, как злоупотребление алкоголем, количество потребляемой соли?

3. Автор предлагает различные комбинации генотипов, которые повышают риск развития артериальной гипертензии в 1,5-5 раз. При этом наличие аллели *G* и генотипа *GG SNP A50615794G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития эссенциальной гипертензии более чем в 5 раз. Целесообразно ли с практической точки зрения определять комбинацию из нескольких генотипов для прогнозирования развития артериальной гипертензии?

4. В работе установлено, что к риску развития гипертрофии миокарда левого желудочка сердца предрасполагает носительство аллели *G* и генотипа *GG SNP A50615794G* гена потенциал-управляемых кальциевых ионных каналов *CACNA1G*. Учитывался ли при оценке данных результатов такой показатель как давность артериальной гипертензии, применяемое лечение патологии и приверженность больных к терапии? Возможно, носительство аллели *G* и генотипа *GG SNP A50615794G* гена потенциал-управляемых кальциевых ионных каналов *CACNA1G* является фактором риска развития АГ в более молодом возрасте, и, соответственно, более длительный анамнез заболевания способствовал развитию гипертрофии миокарда левого желудочка.

Вышеуказанные вопросы являются предметом дискуссии, не ограничивая в целом высокую ценность настоящего исследования, и могут быть использованы автором для планирования дальнейших исследований в данном научном направлении.

Заключение

Диссертация Пушкарёва Бориса Сергеевича «Роль генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена важная задача, раскрывающая роль генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии, имеющая первостепенное значение для патологической физиологии.

Работа Б.С.Пушкарёва полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ №1168 от 01.10.2018 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук,
доцент кафедры патологической
физиологии и клинической
патофизиологии Федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования «Новосибирский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

«27» мая 2020 г.



Шилов Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; тел. +7 (383) 225-39-78, e-mail: newsib54@gmail.com.