

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Фетисова Николая Сергеевича
«Прогностическое значение полиморфизма генов системы гемостаза и генов,
контролирующих тонус сосудистой стенки, у беременных женщин с
гипертензивными расстройствами различного генеза»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальностям: 14.01.01 – акушерство и гинекология,
03.02.07 – генетика

Актуальность темы исследования.

Диссертационная работа Фетисова Николая Сергеевича посвящена актуальной проблеме – изучению клинических и генетических факторов риска развития эклампсии и артериальной гипертензии при беременности, которые в настоящее время имеют высокую частоту встречаемости и определяют выраженные негативные последствия, как для состояния организма матери, так для здоровья и жизни плода и новорожденного.

Согласно современным научным представлениям, артериальная гипертензия и гипертензивные расстройства при беременности имеют многофакторную этиологию, риск развития которых характеризуется полигенным характером наследования. Наследственная предрасположенность к ним обусловлена мутациями и полиморфными вариантами целого ряда генов. Помимо вклада отдельно взятых неблагоприятных ДНК полиморфизмов в формировании предрасположенности имеет значение межгенное взаимодействие, которое реализуется в болезнь при определенных условиях внешней среды. Несмотря на активные исследования в области генетики артериальной гипертензии и связанного с ней осложненного течения беременности, решение вопроса о роли и значимости различных аллельных вариантов генов, их сочетаний в предрасположенности к преэклампсии (ПЭ) далеко от завершения. Среди причин развития ПЭ многие авторы указывают на наследственно обусловленные нарушения в системе гемостаза и функции сосудистой стенки, однако единого мнения относительно особенностей генотипа, определяющих наследственную тромбофилию и дисфункцию эндотелия, при гипертензивных расстройствах при беременности, в настоящее время нет. Данные, накопленные в научной литературе, разнообразны и противоречивы, что связано и с особенностями

генотипа в разных популяциях и этнических группах, с различиями в критериях формирования исследуемых выборок, в наборах генов и исследуемых локусов. Поэтому изучение полиморфизмов генов, контролирующих гемостаз и функцию сосудистой стенки, сопоставление их аллельных вариантов и генотипов с наличием или отсутствием гипертензивных расстройств при беременности имеет как теоретическое, так и практическое значение. С учетом высокой социальной и медицинской актуальности проблемы работа представляет несомненный интерес для медицинской генетики и практической медицины, в частности в акушерстве и гинекологии, а также в медико-генетическом консультировании.

Цель исследования четко сформулирована и направлена на оценку значимости полиморфизмов генов, контролирующих гемостаз и тонус сосудистой стенки, в развитии ПЭ и гипертензивных расстройств у беременных, разработку метода прогнозирования данной патологии беременности.

Новизна исследования и полученных результатов, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна исследования очевидна. Автором получены данные, имеющие важное теоретическое и практическое значение.

В диссертационной работе впервые установлены частоты аллельных вариантов и генотипов по 8 генам факторов системы гемостаза (*F2, F5, F7, F13A1, FGB, PAI-1, ITGA2, ITGB3*) и по 7 генам (*ADD1, AGT, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, GNB3, NOS3*), вовлеченных в регуляцию тонуса сосудистой стенки, у женщин с различными гипертензивными расстройствами при беременности и женщин с неосложненным течением беременности из популяции Ивановской области.

Показаны особенности генотипа в генах системы гемостаза и генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, пациенток с гипертензивными расстройствами различного генеза: хронической артериальной гипертензией (ХАГ), ПЭ и ХАГ с присоединившейся ПЭ. Установлено, что наличие в генотипе негативных аллелей в гене антагониста тканевого активатора плазминогена и в гене синтазы оксида азота является молекулярно-генетическим предиктором повышенного

риска развития ПЭ вне зависимости от факта наличия или отсутствия хронической артериальной гипертензии у пациентки в период, предшествующий наступлению беременности. Показано значимо более частое присутствие в генотипе женщин с ХАГ Лейденской мутации и неблагоприятного полиморфизма гена рецептора 2-го типа к ангиотензину.

Выявлены комбинации негативных аллелей в генах гемостаза и генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, у беременных с гипертензивными расстройствами. Установлено, что некоторые из аллелей, выявленных в генотипе пациенток с осложненным течением беременности не дают статистически значимых отличий по сравнению с контролем, при анализе сочетанного присутствия с другими полиморфизмами демонстрируют отличие с высокой степенью статистической значимости. Таким образом, автором подтверждается полигенная модель наследования артериальной гипертензии и ПЭ, при которой роль наследственных факторов в генезе патологии определяется комбинацией в генотипе различных аллельных вариантов, т.е. их аддитивным эффектом.

В представленной работе обнаружены отличия в генотипе между группами пациенток с ХАГ, беременность которых осложнилась или не осложнилась присоединением ПЭ. Показано, что на факт осложнения беременности влияет наличие в генотипе целого ряда неблагоприятных полиморфизмов в генах системы гемостаза и генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, а также определенные средовые воздействия, в частности, наличие или отсутствие антигипертензивной терапии в период, предшествующий наступлению беременности. На основе полученных данных автором предложен способ прогнозирования риска развития ПЭ у женщин с ХАГ.

Объем исследования представляется достаточным для получения статистически значимых результатов, а методическая часть соответствует основным требованиям, предъявляемым к научным исследованиям.

В работе представлены данные обследования 242 беременных женщин, из них: 49 беременных с существовавшей ранее артериальной гипертензией; 95 женщин с ПЭ; и 43 женщины с ХАГ с присоединившейся ПЭ. В качестве контрольной группы

отобраны 55 женщин без признаков гипертензивных расстройств с неосложненным течением беременности на момент обследования.

Положительными характеристиками дизайна работы являются обследование согласно клиническим рекомендациям и стандартам специализированной медицинской помощи, а также этническое и географическое единообразие включенных в исследование пациенток (все обследованные являлись этническими русскими из Ивановской области).

Автор использовал современные методы диагностики, наблюдения и статистической обработки данных. Обследование включало комплекс клинических, лабораторно-инструментальных, в том числе молекулярно-генетических исследований с использованием современных методик, в частности, анализа полиморфизма генов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Научные положения, выводы и практические рекомендации обоснованы и соответствуют материалам, представленным в диссертации.

Значимость результатов диссертации для науки и практики, возможные пути их использования

Представленная диссертационная работа имеет несомненный научный и практический интерес.

Установлены частоты аллельных вариантов и генотипов по вариантам генов, кодирующих факторы системы гемостаза, и генов, контролирующих функцию сосудистой стенки, у русских женщин из популяции Центрального Федерального округа России. Показаны отличия в генотипе здоровых женщин и пациенток с гипертензивными расстройствами во время беременности. Определены маркеры повышенного риска развития ПЭ в генах системы гемостаза и генах, контролирующих тонус сосудистой стенки, как по отдельности, так и в сочетании. Полученные автором результаты вносят вклад в процесс накопления данных о распространенности полиморфизмов по разным группам генов в популяциях Российской Федерации, а также делают возможным более глубокое понимание о

вкладе генотипа пациента в развитии мультифакториальной патологии, в частности, в генезе артериальной гипертензий и ПЭ.

Выявленные в работе ассоциации (факторы риска ХАГ и ПЭ) могут быть использованы в практике медико-генетического консультирования, а также в образовательном процессе у студентов-медиков, ординаторов и специалистов с высшим медицинским или биологическим образованием для демонстрации в качестве примера полигенной модели наследования признака (заболевания).

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Фетисова Николая Сергеевича построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, четырех глав результатов исследования, обсуждения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 17 таблицами, полно отражающими генные и генотипические частоты по изученным локусам, и 1 рисунком. Использованная литература современна и включает 212 источников, в том числе 118 иностранных.

Во **Введении**, занимающим 8 страниц текста, автором обоснована актуальность научного исследования, отражена степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи, отражена научная новизна и практическая значимость диссертационной работы, сформулированы положения, выносимы на защиту, отражены степень внедрения результатов исследования и сведения об апробации результатов исследования, публикациях по теме исследования, объеме и структуре диссертации, личном вкладе автора в работу.

В оборе литературы, изложенном на 23 страницах текста, проведен анализ научной литературы по теме исследования, освещены распространенность изучаемой патологии, история развития представлений и современные знания о гипертензивных расстройствах при беременности, сведения о связи определенных заболеваний и генетических факторов в генезе артериальной гипертензии и преэклампсии, роль полиморфизма ряда генов, вовлеченных в их развитие. Обзор выполнен на высоком профессиональном уровне, что свидетельствует о высокой компетентности соискателя.

В разделе **Материалы и методы исследования** дана клиническая характеристика исследованной выборки женщин исследуемой группы и контроля, критерии включения и разделения исследуемой (основной группы) на 3 подгруппы: 1 – с существовавшей ранее артериальной гипертензией, 2 – с преэклампсией, 3 – с хронической артериальной гипертензией и преэклампсией; описаны методы клинического и клинико-лабораторного исследования, которое выполнено согласно принятым в настоящее время стандартам оказания медицинской помощи.

Для выполнения исследования автором использована специально разработанная «Карта обследования» пациенток. Среди использованных методов приведено краткое описание молекулярно-генетического исследования с указанием генов, их локализации и исследованных для них полиморфизмов, а также подробное описание использованных в работе методов статистического анализа.

Главы 3, 4, 5 и 6 посвящены собственным **Результатам исследования**, и представляющим основную часть работы (50 страниц).

В главе 3 приведена клиническая характеристика беременных женщин с гипертензивными расстройствами, выявленные особенности их соматического и акушерско-гинекологического анамнеза, а также течения и исходов беременности у пациенток обследованных групп. В главах 4 и 5 отражены результаты по анализу полиморфизмов генов системы гемостаза и генов, контролирующих тонус сосудистой стенки, соответственно, у женщин с гипертензивными расстройствами, с ПЭ и без них. В главе 6 приводятся данные анализа присутствия в генотипе различных исследованных вариантов генов у женщин исследованных подгрупп и в контроле.

В **Обсуждении полученных результатов** (19 страниц) автор подробно анализирует и сопоставляет полученные результаты, в том числе с данными других исследователей. Наглядно показано влияние на развитие изученных в работе осложнений беременности, таких клинических факторов, как наличие в предыдущих беременностях гипертензивных расстройств, сердечно-сосудистых заболеваний у родственников I–II степеней родства, гинекологической и экстрагенитальной патологии у беременных: бесплодия, самопроизвольных абортов, преждевременных родов в анамнезе, избыточной массы тела, варикозной болезни нижних конечностей, наличие заболеваний мочевыделительной системы, нарушений менструальной

функции, метаболического синдрома и сахарного диабета. У пациенток с ХАГ выявлены значимо более высокая частота преждевременных родов, оперативного родоразрешения, недоношенности и перинатальной патологии у плода. Антенатальная гибель плода отмечена только у пациенток, имевших гипертензивные расстройства, а случаи перинатальной смерти – только в группах женщин с ПЭ.

Установлено, что гипертензивные расстройства ассоциированы с определенными аллелями генов системы гемостаза (*F5*) и генов, контролирующих тонус сосудистой стенки (*AGTR2*), а также их сочетаниями (*PAI-1*, *NOS3*). Развитие преэклампсии у беременных с ХАГ связано с некоторыми вариантами генов (*AGT*, *CYP11B2* и *GNB3*), контролирующих тонус сосудистой стенки, их сочетанием. Полученные данные подтверждают аддитивность различных генов в наследованной предрасположенности к развитию данных многофакторных заболеваний.

И, наконец, еще одним достоинством работы является разработанная математическая модель прогнозирования риска развития преэклампсией у женщин с ХАГ, учитывающая показатель артериального давления в первом триместре беременности, проведение регулярной анти-гипертензивной терапии до беременности, а также наличие в генотипе аллелей *AGT704C* и *CYP11B2(-344)T*.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с общепринятыми требованиями, соответствует ее содержанию и дает полное представление об основных положениях диссертации.

Основные положения диссертации достаточно полно отражены в 14 научных работах, из которых 4 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

В целом, диссертационная работа производит весьма хорошее впечатление, она написана хорошим литературным языком и аккуратно оформлена. Встречающиеся в тексте опечатки и ошибки согласования единичны.

Принципиальных замечаний по содержанию работы, выводов и положений нет. Однако следует отметить следующие замечания и вопросы:

1. Обзор литературы не содержит иллюстраций, их наличие облегчило бы его

восприятие.

2. В разделе Материалы и методы исследования не описана использованная для анализа ДНК полиморфизмов методика полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, также в работе и в автореферате отсутствуют сведения, где и кем выполнялось молекулярно-генетическое исследование.
3. Хотя в работе исследована значимость различных клинических и генетических как факторов риска развития преэклампсии и гипертензивных расстройств, в ней не проведен анализ сочетания различных клинических факторов и генетических полиморфизмов и генотипов, их сопоставление в развитии и тяжести исследованных форм патологии беременности.
4. В тексте приведены значения значимости (p), но нет значений статистических критериев. По некоторым из аллельных вариантов и генотипов различия были близки к статистически значимым. Возможно, при большей выборке, в частности контрольной группы, различия достигли бы уровня значимости.
5. В разделе обсуждения было бы уместно привести таблицу/рисунок с частотами исследованных полиморфизмов и генотипов, для которых получены значимые различия. Это облегчило бы восприятие сравнительного анализа полученных автором результатов и данных других исследований, в частности женщин из российской популяций.
6. В работе показано, что некоторые негативные аллельные варианты имеют высокую частоту встречаемости не только у пациенток с гипертензивными расстройствами, но и у женщин с неосложненным течением беременности. Как можно объяснить данный факт?
7. Насколько реальным возможно широкое использование разработанный автором способ прогнозирования преэклампсии у женщин с хронической артериальной гипертензией?

Следует отметить, что вопросы и замечания не касаются основных положений, изложенных в диссертации, а вызваны теоретическим и практическим интересом к проблеме генетической предрасположенности к патологии, исследованной в работе, и не снижают ценности полученных результатов и положительной оценки работы.

