

«УТВЕРЖДАЮ»

**Проректор по научной работе
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский
государственный университет»**

С.В. Микушев



2023

О Т З Ы В

ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» о научно-практической ценности диссертации Ду Цзинь на тему: «Обеспеченность витамином D и варианты *TaqI*, *BsmI* и *ApaI* гена рецептора витамина D у больных ишемической болезнью сердца различного возраста», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20 – кардиология.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Вопросы прогнозирования и выявления новых факторов ишемической болезни сердца, первичной и вторичной профилактики атеросклероза являются одними из наиболее востребованных в практической кардиологии. Это позволяет совершенствовать дифференцированную врачебную тактику у больных ишемической болезнью сердца. Однако в настоящее время остаётся нерешённым ряд проблем, связанных с изучением молекулярных и генетических предикторов ишемической болезни сердца. Изучение обеспеченности

25(OH)D в ассоциации с молекулярно-генетическими исследованиями у больных ишемической болезнью сердца является крайне актуальным вопросом кардиологии. В литературе имеются противоречивые данные о прогностической значимости вариантов *TaqI*, *BsmI* и *ApaI* гена рецептора витамина D у больных ишемической болезнью сердца, что может быть связано с этническими различиями встречаемости разных генотипов исследуемого гена, однако работы, посвященные изучению связи различных генотипов изучаемого гена рецептора витамина D на прогноз заболевания у больных ишемической болезнью сердца не проводились. Кроме этого, в литературных источниках практически не встречаются работы, посвященные связи вариантов *TaqI*, *BsmI* и *ApaI* гена рецептора витамина D с различной обеспеченностью 25(OH)D. Таким образом, актуальность темы настоящей диссертационной работы не вызывает сомнений.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Автором диссертационной работы получены новые научные данные об особенностях течения ИБС у людей различного возраста: для больных с дебютом заболевания в возрасте 45 лет и младше характерна большая частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, начало ишемической болезни сердца в возрасте 45 лет и младше ассоциируется с повышением риска дебюта заболевания в форме инфаркта миокарда. Одно- и двух-сосудистое поражение коронарных артерий более характерно для больных с дебютом заболевания в 45 лет и младше, чем для больных с дебютом заболевания в возрасте 60 лет и старше.

Впервые установлено распределение генотипов и встречаемость аллелей *ApaI* (rs7975232) и *BsmI* (rs1544410) вариантов гена рецептора витамина D у больных ишемической болезнью сердца с дебютом заболевания в различном возрасте – жителей Санкт-Петербурга.

Установлено, что наличие генотипов *aa* (вариант *ApaI* (rs7975232)) и *bb* (вариант *BsmI* (rs1544410)) гена рецептора витамина D ассоциируется с увеличением риска ишемической болезни сердца, особенно у людей молодого возраста. У больных ишемической болезнью сердца наличие *aa* генотипа и *a*

аллеля (вариант *ApaI* (rs7975232)) гена рецептора витамина D ассоциируется с повышением риска инфаркта миокарда.

Выявлено, что наиболее низкие значения 25(ОН)D сыворотки крови характерны для больных с дебютом заболевания в возрасте 45 лет и младше и для больных, перенесших несколько инфарктов миокарда. Выраженный дефицит 25(ОН)D ассоциируется с повышением риска ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и многососудистого поражения коронарных артерий.

Доказано, что наличие *AA* (вариант *ApaI* (rs7975232)) и *BB* генотипов (вариант *BsmI* (rs1544410)) гена рецептора витамина D ассоциируется со снижением риска многососудистого поражения коронарных артерий у больных ишемической болезнью сердца.

Впервые установлено пороговое значение уровня 25(ОН)D – $\leq 19,4$ нг/мл, при котором у больных ишемической болезнью сердца в 4,5 раза возрастает риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Практическая ценность работы состоит в том, что впервые установлено, что риск ИБС определяется не только конкретными факторами риска (курение, возраст, артериальная гипертензия), но и числом факторов риска. Установлено, что при наличии четырех и более факторов риска, риск ИБС в 2,7 раза больше, чем при наличии меньшего количества факторов риска, что важно для выбора метода вторичной профилактики атеросклероза.

Результаты диссертационной работы позволяют выделить варианты гена рецептора витамина D в качестве предиктора риска ишемической болезни сердца.

ДОСТОВЕРНОСТЬ И ОБЪЕКТИВНОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ

Объём проведённого автором клинико-генетического и лабораторно-инструментального исследования достаточен для решения поставленных задач. В клиническую часть диссертационной работы включено 410 больных ишемической болезнью сердца и 320 обследованных сопоставимого возраста без клинических признаков ишемической болезни сердца, достоверность данных клинического результатов лабораторно-инструментального обследования подтверждена первичной документацией. Обследование пациентов и

обследованных группы сравнения проводилось на сертифицированной аппаратуре экспертного типа. Результаты генетического исследования объективизированы, фотоархивированы и подтверждены первичной документацией. В диссертационной работе использовались современные методы иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка проведена тщательно, с применением адекватных биометрических методик, в том числе применялись расчёты в системе ANOVA, корреляционный и регрессионный анализы, точный метод Фишера, расчёт соотношения шансов риска развития изучаемой патологии. Все расчёты осуществлялись с помощью современных компьютерных программ статистического анализа.

Всё вышеизложенное позволяет сделать заключение, что достоверность полученных результатов, научных положений и выводов диссертационной работы не вызывает сомнений.

ОБЩАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ И СОДЕРЖАНИЯ РАБОТЫ

Форма и способ изложения материала диссертационной работы Ду Ц. соответствует требованиям ВАК. Диссертация состоит из введения, обзора данных мировой и отечественной литературы по теме работы, главы, посвящённой клинической характеристике обследованных больных ИБС, в которой подробно излагаются методы диагностики, шести глав результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка используемых источников литературы. Библиографический список содержит 223 публикации, в том числе 18 отечественных и 205 иностранных. Основные положения диссертационной работы иллюстрированы 54 таблицами и 20 рисунками.

В *обзоре литературы* анализируются последние данные о новых факторах риска ишемической болезни сердца, в частности, о дефиците 25(OH)D и генетических факторах, а также ассоциированных с развитием ишемической болезни сердца в различном возрасте. Автор приводит современные представления о роли рецептора витамина D в развитии атеросклеротического поражения сосудов у пациентов различного возраста. Анализируется роль

витамина D в атерогенезе, механизмы его регуляции. Приводятся противоречивые данные об ассоциации изучаемых автором вариантов гена рецептора витамина D с риском развития ишемической болезни сердца у больных различного возраста.

Глава 2 посвящена клинической характеристике больных и описанию методов диагностики. Анализируются факторы риска ишемической болезни сердца у пациентов с дебютом заболевания в различном возрасте. В главе 2 приводится описание метода определения генотипов гена рецептора витамина D с помощью метода полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом, рассматривается технология проведения иммуноферментной диагностики, описываются протоколы проведения коронароангиографии при наличии у обследованных пациентов показаний к ней.

В *главе 3* анализируется содержание 25(OH)D в сыворотке крови и обеспеченность 25(OH)D больных ишемической болезнью и группы сравнения без ишемической болезни сердца различного возраста. Установлено, что уровень 25(OH)D в сыворотке крови у больных ИБС ниже, чем у пациентов из группы сравнения без ИБС ($p=0,001$). Автором показано, что выраженный дефицит 25(OH)D выявлялся чаще у больных ИБС, чем в группе сравнения без ИБС ($p=0,001$). При проведении статистического анализа установлено, что наличие выраженного дефицита 25(OH)D ассоциируется с повышением риска ИБС, а нормальный уровень 25(OH)D ассоциируется со снижением риска ИБС. Нормальный уровень обеспеченности 25(OH)D чаще отмечен у обследованных из группы сравнения без ИБС, чем у больных ИБС ($p=0,0002$).

Наиболее низкие значения 25(OH)D сыворотки крови выявлены у больных с дебютом заболевания в возрасте 45 лет и младше и у больных, перенесших несколько инфарктов миокарда.

Автором установлено, что выраженный дефицит 25(OH)D чаще выявлялся у больных ИБС с инфарктом миокарда (ИМ) в анамнезе, чем у больных ИБС без перенесенного ИМ и ассоциировался с повышением риска ИМ у больных ИБС. Уровень 25(OH)D в сыворотке крови больных ИБС с многосо-

судистым поражением коронарного русла ниже, чем у обследованных пациентов с однососудистым и двухсосудистым поражением.

По результатам, полученным в исследовании, выраженный дефицит 25(ОН)D чаще выявлялся у больных ИБС с многососудистым поражением коронарного русла, чем с однососудистым и двухсосудистым поражением ($p=0,001$). У больных ИБС с выраженным дефицитом 25(ОН)D вероятность развития многососудистого поражения коронарных артерий в 7 раз выше, чем у пациентов без выраженного дефицита 25(ОН)D.

В *главе 4* анализируются результаты молекулярно-генетических исследований *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) и *ApaI* (rs7975232) вариантов гена рецептора витамина D, с оценкой влияния данных полиморфизмов на риск ишемической болезни сердца и особенности клинического течения заболевания у больных различного возраста. Автором показано, что распределение генотипов и встречаемость аллелей *TaqI* (rs731236) варианта гена *VDR* у больных ИБС и в группе сравнения без ИБС не различались ($p>0,05$). Среди больных ИБС было больше пациентов, имеющих *bb* генотип *BsmI* (rs1544410) варианта гена *VDR*, чем в группе сравнения ($p=0,001$).

Установлено, что у людей с *bb* генотипом гена *VDR*, риск ИБС в 1,99 раз выше, чем у людей с *BB* и *Bb* генотипами. *b* аллель чаще выявляется у больных ИБС, чем у обследованных из группы сравнения ($p=0,04$), при этом у людей с наличием *b* аллеля риск ИБС в 1,47 раз выше, чем у обследованных, имеющих *B* аллель. *b* аллель *BsmI* (rs1544410) варианта гена *VDR* выявлялся чаще у больных с дебютом ИБС в возрасте 45 лет и младше и в возрасте 46-59 лет, чем у пациентов из группы сравнения без ИБС сопоставимого возраста, при этом наличие *b* аллеля гена *VDR* было связано с повышением риска дебюта ИБС в возрасте 45 лет и младше.

Автором показано, что генотип *aa* *ApaI* (rs7975232) варианта гена *VDR* чаще встречался у больных ИБС, чем в группе сравнения без ИБС. Риск ИБС у носителей генотипа *aa* гена *VDR* выше, чем у носителей других генотипов *ApaI* (rs7975232) варианта гена *VDR*. У больных ИБС с дебютом заболевания в возрасте 45 лет и младше чаще выявлялся *aa* генотип гена *VDR* (*ApaI* вариант), чем у пациентов с дебютом заболевания в возрасте старше 45 лет

($p=0,01$). Установлено, что у носителей *aa* генотипа и *a* аллеля гена *VDR* риск развития ИБС в возрасте 45 лет и младше выше, чем у носителей других генотипов и аллеля *A* гена *VDR*, но наличие *aa* генотипа и *a* аллеля не связано с увеличением риска ИБС в других возрастных группах.

Установлено, что уровень 25(ОН)D сыворотки крови у больных ИБС, имеющих *bb* генотип гена *VDR* выше, чем у пациентов, имеющих *BB* и *Bb* генотипы гена *VDR*. *bb* генотип и *b* аллель гена *VDR* (rs1544410) чаще выявлялись у больных ИБС с дефицитом 25(ОН)D (<20 нг/мл), чем без дефицита 25(ОН)D (≥ 20 нг/мл). Установлено, что у больных ИБС с наличием *bb* генотипа и *b* аллеля (*BsmI* вариант (rs1544410)), *aa* генотипа и *a* аллеля (*ApaI* (rs7975232) вариант) гена *VDR* риск дефицита 25(ОН)D и выраженного дефицита 25(ОН)D выше, чем у носителей других генотипов и аллелей исследуемого гена.

В *главе 5* приведены результаты анализа особенностей атеросклеротического поражения коронарных сосудов у больных ишемической болезнью сердца различного возраста, имеющих различные генотипы гена рецептора витамина D (*TaqI*, *BsmI*, *ApaI* вариант). Автором установлено, что распределения *TT*, *Tt*, *tt* генотипов и встречаемость *T*, *t* аллелей гена *VDR* (*TaqI* (rs731236) вариант) не различались у пациентов с различным числом пораженных коронарных артерий ($p>0,05$). Многососудистое поражение коронарных артерий встречалось чаще у больных ИБС, имеющих *bb* генотип и *b* аллель гена *VDR* *BsmI* вариант, rs1544410), чем однососудистое поражение ($p=0,04$ и $p=0,04$, соответственно).

Показано, что многососудистое поражение коронарного русла встречалось реже у больных ИБС, имеющих *AA* генотип *ApaI* варианта гена *VDR*, чем однососудистое поражение ($p=0,005$). Носительство *BB* генотипа *BsmI* варианта и *AA* генотипа *ApaI* варианта гена *VDR* ассоциировалось с меньшим риском многососудистого поражения коронарных артерий.

В *главе 6* представлены результаты проспективного наблюдения за пациентами, включенными в исследование. Автором показано, что у 126 (55,5%) больных ИБС, вошедших в проспективное исследование, была зафиксирована комбинированная конечная точка (ККТ). Пациенты, достигшие

ККТ, были старше, чем больные без ККТ ($p=0,04$), и чаще курили ($p=0,03$). Уровень глюкозы сыворотки крови у больных ИБС с ККТ был выше, а содержание 25(OH)D в сыворотке крови ниже, чем у больных ИБС без ККТ. Дефицит 25(OH)D с уровнем 25(OH)D менее 20 нг/мл выявлялся чаще у больных ИБС с наличием ККТ, чем без неё ($p=0,001$) и был ассоциирован с повышением риска комбинированной конечной точки ($p<0,001$). По другим изучаемым показателям эти группы были сопоставимы ($p>0,05$).

При использовании метода классификационных деревьев автором было рассчитано пороговое значение уровня 25(OH)D в сыворотке крови, при котором значительно увеличивается риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. При уровне 25(OH)D $\leq 19,4$ нг/мл риск достижения ККТ увеличивается в 4,5 раза.

Распределение генотипов и встречаемости аллелей вариантов *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) и *ApaI* (rs7975232) гена *VDR* у больных ИБС с наличием ККТ и без неё не различались ($p>0,05$).

При анализе результатов проспективного наблюдения за больными ИБС, установлено, что основными факторами, влияющими на прогноз заболевания, являются: курение, стенокардия III-IV функциональных классов, неполная реваскуляризация, многососудистое поражение коронарных артерий, дебют ИБС в возрасте 45 лет и младше и дефицит 25 (OH)D.

В разделе *обсуждение результатов* автор анализирует полученные данные собственного оригинального исследования и сопоставляет их с работами других авторов, демонстрируя хорошие знания литературы по исследуемому вопросу.

Выводы и практические рекомендации полностью соответствуют поставленным задачам и результатам настоящего исследования.

Работа изложена доступным языком, иллюстрирована таблицами и рисунками, отражающими результаты собственных исследований. Автор проявил себя как специалист с хорошим знанием литературы по теме диссертационной работы, владеет методами статистического анализа биометрических данных.

Автореферат полностью соответствует основным положениям, изложенным в диссертации.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования используются в учебном и лечебном процессах кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой им. акад. Г.Ф. Ланга, , , в диагностическом процессе сердечно-сосудистого отделения кафедры факультетской хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Методы диагностики больных, предложенные автором, используются в практической и научной деятельности Научно-исследовательского института сердечно-сосудистых заболеваний Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Результаты исследования доложены на большинстве ключевых международных кардиологических конференций и конгрессов в 2020-2023 гг. По теме диссертации опубликовано 4 работы в изданиях, включённых в "Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий".

ВОПРОСЫ И ЗАМЕЧАНИЯ

Принципиальных замечаний к представленному диссертационному исследованию и автореферату нет. В ходе ознакомления с работой возникли следующие вопросы:

1. Каковы уровни витамина Д в популяции китайских жителей и как эти уровни ассоциированы с ишемической болезнью сердца в этой популяции?

2. Сохраняют ли свою актуальность и ассоциации с ишемической болезнью сердца в китайской популяции полиморфизмы генов, кодирующих обмен витамина D, выявленные в российской популяции.

Возникшие комментарии и вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют теоретической и практической значимости рецензируемой диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ду Ц. «Обеспеченность витамином D и варианты *TaqI*, *BsmI* и *ApaI* гена рецептора витамина D у больных ишемической болезнью сердца различного возраста», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20 – кардиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной проблемы в кардиологии, имеющей важное значение для решений современных клинических задач в этой области - улучшение прогнозирования риска ишемической болезни сердца и алгоритмов первичной и вторичной профилактики заболевания на основании комплексного клинико-генетического обследования.

По своей актуальности, новизне результатов, степени обоснованности научных положений, представленных на защиту, и практических предложений, значимости для кардиологии, по отражению основных положений работы в печати, диссертационная работа Ду Цзинь полностью соответствует требованиям п.9 "Положения о порядке присуждения учёных степеней", утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335; от 02.08.2016 г. № 748), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук Ду Цзинь достойна присуждения ей учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.20 – кардиология.

Отзыв на диссертацию и автореферат составил д.м.н. профессор А.Г. Обрезан

Отзыв на диссертацию обсужден и единогласно одобрен на заседании кафедры госпитальной терапии медицинского факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», протокол № 7 от 27 июня 2023 г.

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой госпитальной терапии
Медицинского Факультета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»
Правительства Российской Федерации

А.Г. Обрезан

Обрезан Андрей Григорьевич – заведующий кафедрой госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», доктор медицинских наук, профессор.

Шифр и наименование научной специальности, по которой защищена диссертация 14.00.06 (кардиология) и 14.00.44 (сердечно-сосудистая хирургия) - . Адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д.7-9. Тел: +7 (812) 328-20-00, эл. почта: spbu@spbu.ru, Сайт: spbu.ru

Подпись: *А.Г. Обрезан*
Исполнитель: *С.А. Смирнов*
отдел: *С.А. Смирнов*
27 июня 2023