

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора Стоєвої Тетяни Вікторівни – на дисертаційну роботу Кіян Надії Романівни «Генетичні та епігенетичні фактори у реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей», що подано в спеціалізовану вчену раду Д 76.600.02 Буковинського державного медичного університету МОЗ України для розгляду та проведення захисту дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук з галузі «Охорона здоров'я» за спеціальністю 14.01.10 - «Педіатрія»

Актуальність теми дослідження. Проблема кристалурічних нефропатій у дитячому віці не втрачає своєї актуальності, залишаючи, як і раніше, більше питань ніж відповідей. Тому своєчасність даного дисертаційного дослідження не викликає жодних сумнівів, а також підтверджується зростаючою зацікавленістю темою дисметаболічних станів цілої низки провідних міжнародних фахових асоціацій. З огляду на новітні уявлення щодо процесів літогенезу, зокрема зміну загальноприйнятої парадигми бачення сечокам'яної хвороби як виключно уро-нефрологічної проблеми, обраний напрямок дослідження є вельми сучасним. Наразі у 2023-2024 році *American Heart Association* запровадила концепцію кардіо-ренального метаболічного синдрому і вже з 2024 *European Association of Urology* рекомендує вважати процес формування конкременту однією з важливих ознак метаболічного синдрому, який на сьогодні є наріжним каменем сукупності суміжних спеціальностей - кардіоревматології, нефрології, урології, ендокринології – і визначає ризик важких проблем із здоров'ям в різних вікових групах у тому числі у дітей.

Згідно із сучасними міжнародними гайдлайнами терапевтичні підходи при нефролітіазі орієнтовані переважно на диференційовані способи видалення вже сформованого конкременту з сечовій системи (іригаційний хемоліз, експульсивна терапія, ендуроурологічний менеджмент, літотрипсія),

а також метафілактику рецидиву каменеутворення. При цьому лікувально-профілактичні програми спираються на вивчення метаболічного профілю пацієнта та результати біомінералогічного складу вже сформованих і видалених конкрементів. У той же час заходи первинної профілактики, роль яких надзвичайно важлива у дитячому віці, не зазнали суттєвих змін і досі потребують вивчення та переосмислення з огляду на значущість генетичних та епігенетичних факторів при кристалуріях.

Зважаючи на зростаючий рівень поширеності сечокам'яної хвороби в дитячій популяції та її несприятливі наслідки, саме профілактика з урахуванням складних метаболічних процесів і патофізіологічних зв'язків на ранніх етапах нефролітіазу, вже під час кристалурічної фази має величезне значення. Витоки метаболічних захворювань доцільно виявляти у дитячому віці та проводити своєчасну патогенетично-орієнтовану корекцію задля попередження прогресування та профілактики важких тубулоінтерстиційних порушень, розвитку нефролітіазу, хронічної хвороби нирок, розладів мінерально-кісткового обміну.

І, нарешті, не можна переоцінити роль прогнозування перебігу патології з оцінкою ймовірного її розвитку та результату. З огляду на мультифакторну природу дисметаболічної нефропатії (ДМН) та її переважно полігенний тип успадкування, урахування молекулярно-генетичних основ патології із визначенням одонуклеотидних поліморфізмів окремих генів схильності, є вагомим компонентом ефективного прогнозування. Слід зазначити, що існуючі сьогодні інструменти генетичного скринінгу при сечокам'яній хворобі - *Next Generation Sequencing gene panel* - орієнтовані передусім на виявлення моногенних варіантів генетичних порушень, частота яких у дітей та підлітків складає 12-21%. У той же час уніфікованої панелі генетичного скринінгу для виявлення «генів-кандидатів» та «генів-модифікаторів» при

ДМН досі не існує, але представлена робота робить впевнений крок у розвиток даного напрямку досліджень.

Отже представлена дисертаційна робота Н. Р. Кіян, виконана під керівництвом професора Н. С. Лук'яненко, є не лише актуальним і важливим науковим дослідженням, а і безсумнівно робить внесок у практичну охорону здоров'я.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота являлася фрагментом науково-дослідної роботи кафедри ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» «Пошук маркерів ранньої діагностики та диференціальної діагностики природжених вад розвитку, асоційованих із недиференційованою дисплазією сполучної тканини» (№ держреєстрації 0114U001549) та науково-дослідної роботи Івано-Франківського національного медичного університету «Особливості психосоматичної адаптації у дітей із хронічною соматичною патологією» (№ держреєстрації 0112U004423), «Стан здоров'я та особливості адаптації дітей Прикарпаття із соматичними захворюваннями, їх профілактика» (№ держреєстрації 0121U111129).

Наукова новизна дисертаційної роботи Н. Р. Кіян полягає у тому, що пріоритетним є отримане наукове обґрунтування ролі сукупності генетичних та епігенетичних факторів у патогенезі ДМН у дітей.

У роботі представлений інтегрований підхід до встановлення окремих ланок патогенезу ДМН з урахуванням генетичних особливостей і епігенетичних факторів упродовж послідовних періодів розвитку дитини, починаючи з антенатального етапу.

Виявлено найбільш значущі антенатальні фактори, які впливали на плід, а в постнатальному періоді зумовили більш важкий перебіг ДМН, а також вагомі постнатальні епігенетичні фактори, які спричинили не лише розвиток, але й більш важкий перебіг захворювання.

Встановлено роль синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини у розвитку ДМН у дітей та показано значущість окремих

епігенетичних факторів формування диспластичності, які в силу адитивного ефекту негативним чином впливають на захворювання, обтяжуючи його перебіг.

Вперше на підставі інтегрального вивчення біохімічних показників сполучно-тканинного метаболізму, мінерального обміну та балансу процесів пероксидації й антиоксидантного захисту виділено високоінформативні діагностичні критерії, що характеризують важливі послідовні ланки патогенезу ДМН у дітей та визначають наявність порушень парціальних функцій нефрону за гломерулярним і тубулярним типом.

Вперше встановлений коефіцієнт успадкування схильності до ДМН за моделлю *D. Falconer* залежно від ступеня спорідненості та показано, що обтяжений генетичний анамнез за обмінною патологією збільшує ризик захворювання в 3,5 – 5 рази.

Вперше встановлено, що одним з генетичних факторів реалізації ДМН є носійство гетерозиготного генотипу поліморфного локусу *TaqI* (Tt) гена *VDR3*, який достеменно асоціюється із з ризиком захворювання та збільшує ймовірність його виникнення у дитини у 2,66 рази й обтяження перебігу у 2,83 рази.

Вперше доведено, що носійство гомозиготного генотипу поліморфного локусу *ApaI* гена *VDR3* AA достовірно асоціюється з ризиком захворіти на ДМН і підвищує шанси її виникнення в 5,69 рази, збільшуючи ймовірність ускладненого перебігу у 7,68 рази. Показано, що ризик розвитку ДМН є найвищим у дітей з гаплотипом TtAA.

Доведено гено-модифікуючу роль делецій генів глутатіон-S-трансферази у патогенезі ДМН. Вперше встановлено, що присутність делеційних алелів генів *GSTT1* 0/0 та *GSTM1* 0/0 у генотипі дитини достовірно асоціюються зі схильністю до розвитку ДМН, а їх одночасна наявність збільшує ризик виникнення захворювання у 4,73 рази.

Вперше доведено, що носійство гомозиготного генотипу TT поліморфного локусу *TaqI* і гетерозиготного генотипу Aa поліморфного

локусу *Apa1* гена рецептора вітаміну D3 (VDR-3) асоціюються з протекторними властивостями при прогнозуванні розвитку ДМН.

Практичне значення дисертаційного дослідження визначається розширенням наукових уявлень про ДМН у дітей на підставі встановлення специфічних генетичних та епігенетичних факторів, які виявилися індукторами формування синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, що асоціюється із маніфестацією захворювання та важкістю його перебігу.

Автором запропоновано і обґрунтовано комплекс простих та доступних діагностичних маркерів патологічних процесів, що характеризують перебіг ДМН, які мають не лише діагностичну цінність, а й дозволяють прогнозувати важкість перебігу захворювання.

Дисертантом встановлено, що показники метаболічного профілю сечі з урахуванням вмісту оксипроліну та антикристалутворюючої здатності сечі, сироваткові маркери фосфорно-кальцієвого обміну з визначенням активності паратгормону, параметри системи ПОЛ/АОЗ в плазмі крові і еритроцитах та рівень екскреції сумарних продуктів ПОЛ і полярних ліпідів з сечею, функціональні тести на гіпераміноацидурію, глюкозурію, мікропротеїнурію, а також рівень екскреції креатиніну та глікозаміногліканів з сечею дозволяють виявляти послідовні ланки патогенезу ДМН, і можуть бути використані в якості високоінформативних та чутливих маркерів перебігу захворювання.

Автором розроблено практичні рекомендації щодо консультування сімей з обтяженим за метаболічною патологією генеалогічним анамнезом, які складаються з трьох послідовних етапів (на рівні сімейних лікарів; районного або обласного стаціонару; медико-генетичних кабінетів) і можуть бути імplementовані на різних рівнях надання медичної допомоги задля підвищення ефективності педіатричної служби відносно попередження прогресування ДМН у дітей.

Впровадження результатів дослідження у практику: результати досліджень впроваджені в практику роботи ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» м. Львова, КНП «Бродівська ЦМЛ» м. Львова, «Клініка ЦСМ» м. Біла Церква. Також результати роботи введено у лікувально-діагностичний процес на кафедрі педіатрії Івано-Франківського національного медичного університету.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, із них 1 стаття у виданні, що індексується у міжнародній науково-метричній базі *Scopus*, 4 статті - у наукових фахових виданнях, які рекомендовані ДАК МОН України для публікації результатів дисертаційних робіт, 1 оглядова стаття, 2 тези доповідей.

В опублікованих наукових роботах висвітлені основні результати проведених досліджень, що завершуються висновками, які повністю відображають його результати.

Послідовність викладу результатів дослідження і оцінка змісту дисертації.

Побудова дисертації є традиційною. Дисертація складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури та додатків.

У **вступі** чітко відображена актуальність теми дисертації, викладено характеристику стану проблеми і обґрунтування обраного напрямку дослідження; сформульовані мета, задачі, предмет і методи дослідження. У розділі представлені дані про наукову новизну та практичну цінність роботи, впровадження її результатів в практику охорони здоров'я, особистий внесок здобувача, кількість публікацій за темою дисертації.

Огляд літератури (розділ 1) «Епігенетичні та генетичні фактори у патогенезі дизметаболічної нефропатії у дітей» висвітлює сучасні наукові дані з проблеми, яка вивчається, та окреслює невирішені питання. Огляд

подано академічно, з послідовним описанням проблемних питань. Проведений автором аналіз більше 200 наукових праць глибокий та докладний. Дисертант демонструє обізнаність відносно сучасних аспектів обраної теми та розставляє чіткі акценти у дослідженні проблеми, визначає пріоритетні напрямки її вирішення.

У 2-му розділі «**Матеріали і методи дослідження**» наводиться загальна характеристика когорти обстежених хворих (108 дітей із ДМН), які розподілені на клінічні групи спостереження залежно від варіанту перебігу захворювання. Першу (I-ДН) групу утворили 52 дитини, в яких перебіг ДМН був асоційований з мікробно-запальним процесом у сечовій системі, а другу (II-ДН) групу сформували 56 пацієнтів з ДМН, які не мали в анамнезі клініко-лабораторного підтвердження інфекції сечової системи. Для порівняння отриманих результатів окремо була сформована контрольна група, в яку увійшли 65 умовно-здорових дітей. У розділі подається порівняльний аналіз визначених груп спостереження.

Крім того з метою уточнення значущості спадкових факторів у патогенезі ДМН і характеристик її перебігу було вивчено та представлено дані генеалогічного анамнезу 108 сімей (1076 родичів I–III ступенів спорідненості) дітей з ДМН та 40 сімей (676 родичів) дітей контрольної групи, мешканців 6 районів Івано-Франківської області (м. Верховина, Бурштин, Городенка, Долина, Калуш, Снятин), які було відвідано автором під час експедиційних виїздів.

Приваблює продуманий дизайн роботи, який чітко спрямований на розробку системи спостереження дітей з ДМН з відповідними діагностичними програмами на різних етапах надання медичної допомоги.

Перелік діагностичних методів та план обстеження пацієнтів наведено докладно, що дозволяє відтворити запропонований дизайн.

Аналітична обробка результатів дослідження проведена із використанням сучасних методів статистичного аналізу, які забезпечили формування вірогідних висновків. Дотримання принципів біоетики

дозволило дисертанту провести комплексне обстеження хворих дітей з гарантованим збереженням прав пацієнтів.

У розділі 3 послідовно наведено результати аналізу клініко-анамнестичних та лабораторно-інструментальних даних дітей з різними варіантами перебігу ДМН, визначено етіологічну роль різних факторів у формуванні захворювання послідовно на прекоцепційному етапі, антенатально, перинатально та у подальші періоди життя дітей з урахуванням особливостей харчування та вигодовування, перенесених захворювань, спектру та значущості різних супутніх патологічних станів, а також генеалогічного анамнезу з акцентом на патологію обмінних процесів у родинах обстежених.

Отримані дані демонструють виразний практичний вектор роботи, визначають доцільність та напрямки менеджменту, оскільки серед проаналізованих факторів, більшість є модифікованими і тому, за умов корекції способу життя батьків, адекватної прегравідарної підготовки, уникнення несприятливих факторів під час вагітності, раціонального вигодовування дитини, профілактики респіраторної патології, захворювань травної системи, алергічних станів, вони можуть нівелювати свою значущість. Отже представлені результати дозволяють розробити не лише обґрунтовані способи прогнозування, а й методи ефективної профілактики розвитку ДМН.

Четвертий розділ відображає результати досліджень метаболічних процесів, епігенетичних та молекулярно-генетичних особливостей на наступних (стаціонарному та спеціалізованому) рівнях медичної допомоги.

Отримані у ході дослідження очікувані метаболічні зсуви, притаманні ДМН, були розглянуто з урахуванням особливостей перебігу захворювання. Виявлена сукупність клінічних ознак та метаболічного профілю сечі скерувала вектор подальшого обстеження у бік вивчення процесів фібрилогенезу позаклітинного матриксу та епігенетики сполучно-тканинного обміну у дітей з ДМН. Результати досліджень продемонстрували

патогенетичну роль порушень обміну колагену та діагностичну значущість показників фракцій окиспроліну при визначенні особливостей перебігу ДМН у дітей.

Наступний крок дослідження присвячений вивченню патогенезу на клітинному рівні із зосередженням на функціонуванні клітинних структур організму за умов ДМН. Обрані для цього параметри цілком обґрунтовані і передбачають аналіз механізмів окислювального стресу за сукупністю параметрів системи ПОЛ/АОЗ на фоні особливостей кальцій-фосфорного метаболізму та його регуляції. Значущість визначених структурно-функціональних порушень біологічних мембран на тлі клітинного енергодефіциту було підтверджено й на органному рівні при вивченні парціальних функцій окремих структур нефрону.

Після доведення ролі епігенетичних факторів при ДМН цілком логічним постало вивчення молекулярно-генетичних аспектів захворювання.

З огляду на суттєву роль у процесах метаболізму та мінерального обміну, у тому числі на рівні нирок, предметом дослідження був обраний ген рецептора вітаміну D (*VDR3*), зокрема два його поліморфних локуси. Встановлені в ході аналізу алельного поліморфізму асоціації дозволили визначити ген рецептора вітаміну D геном-кандидатом при ДМН за умов носійства гетерозиготного (Tt) поліморфного локусу *TaqI* та гомозиготного (AA) генотипу поліморфного локусу *ApaI*.

Зважаючи на мультифакторність ДМН через адитивний вплив численних генетичних та середовищних факторів, автором проведено дослідження генів системи біотрансформації - глутатіон-S-трансферази - та показано роль поліморфних, а саме делеційних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1*, які виступили генами-модифікаторами схильності до даної патології.

Застосування означених маркерів дозволяє спрогнозувати особливості маніфестації захворювання та, завдяки таргетному впливу патогенетично-спрямованої терапії, підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів при ДМН у дітей.

П'ятий Розділ «Аналіз та узагальнення» присвячений узагальненню матеріалу і підведенню підсумків роботи. У розділі ретельно проведено аналіз та обговорення результатів власних досліджень з посиланням на відповідні наукові публікації вітчизняних та закордонних авторів.

Автор покроково обговорює отримані у ході дослідження дані і виділяє послідовні причинно-наслідкові зв'язки, які покладено в основу авторської схеми патогенезу ДМН у дітей. На підставі результатів роботи обґрунтовані та представлені діагностичні біохімічні та молекулярно-генетичні маркери прогнозування розвитку та важкості перебігу ДМН у дітей.

Висновки та практичні рекомендації логічно виходять із суті проведених досліджень, відображають мету і завдання роботи, вірогідні та обґрунтовані.

Отримані у роботі наукові дані розкривають неосяжні перспективи подальших досліджень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Усі наукові положення та рекомендації в дисертації чітко сформульовані, підтверджені отриманими результатами.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій забезпечена:

- використанням сучасних методів дослідження, адекватним поставленим завданням;
- використанням системного підходу до обстеження пацієнтів;
- вірогідністю отриманих кількісних даних, які математично опрацьовані із застосуванням адекватних методик статистичного аналізу результатів, методично і науково правильно інтерпретовані.

Зауваження, побажання, запитання.

Принципових зауважень до роботи не маю.

Оформлення рукопису дисертації та автореферату якісне, на достатньо високому рівні. Дисертацію викладено літературною українською мовою, яка

легко сприймається, розділи ілюстровані графіками, таблицями з логічним аналізом отриманих результатів, обґрунтуванням основних положень. Автореферат повною мірою відображує результати наукового дослідження, які викладені у дисертації.

Разом із тим, у процесі ознайомлення з роботою виявлені незначні стилістичні та технічні недоліки, інколи дублювання текстового матеріалу табличним контентом. Дещо перевантаженими фактичним матеріалом видаються висновки дисертаційного дослідження.

Проте дані зауваження суто технічного характеру, вони не торкаються змісту роботи і жодним чином не впливають на її наукову цінність та практичну значущість.

У порядку дискусії хотілося би почути відповідь дисертанта на наступні запитання:

1. Які фенотипові ознаки синдрому дисплазії сполучної тканини найчастіше зустрічалися у обстежених дітей ?
2. Ваше ставлення до саплементації вітаміну Д з урахуванням ролі порушень фосфорно-кальцієвого обміну у процесах ініціації кристалоутворення та літогенезу?
3. Ваше відношення до гіпооксалатної дієти як до потенційно модифікованого фактору ризику при оксалатно-кальцієвій кристалурії?
4. Чи були документовані випадки сечокам'яної хвороби у обстежених Вами дітей за весь час досить тривалого спостереження?
5. Яку кількість пацієнтів було виключено з дослідження через генетично детерміновані процеси літогенезу (первина гіпероксалурія, нирковий тубулярний ацидоз - тип I, ксантинурія, цистинурія)?
6. Який мікробний спектр інфекції сечової системи виявлявся на фоні ДМН і чи призначалися в якості етіотропної терапії сполуки, що здатні впливати на процеси кристалізації у сечі (амоксицилін, цефтріаксон, сульфонамід)?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Кіян Надії Романівни на тему: «Генетичні та епігенетичні фактори у реалізації дизметаболічної нефропатії у дітей», науковий керівник доктор медичних наук, професор Лук'яненко Н. С., є завершеною самостійною науково-дослідною працею, яка вирішує актуальну задачу сучасної педіатрії – підвищення ефективності профілактики, ранньої діагностики та прогнозування маніфестації дизметаболічної нефропатії у дітей шляхом уточнення генетичних та епігенетичних факторів у її патогенезі та встановлення молекулярно-генетичних та біохімічних прогностичних критеріїв захворювання.

Дисертація Кіян Надії Романівни за актуальністю, новизною отриманих результатів дослідження, їх практичним значенням, об'ємом досліджень та рівнем методичного вирішення поставлених завдань повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженим Постановою кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 зі змінами та доповненнями, внесеними згідно Постанови Кабінету Міністрів від 19.08.2015 р. № 656 та Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», які пред'являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія.

Керівник науково-дослідного відділу

Науково-медичного центру CONSILIUM м. Одеси,

доктор медичних наук, професор

Тетяна СТОЄВА

Підпис професора Т. В. Стоєвої завіряю

Директор

Науково-медичного центру CONSILIUM м. Одеси

кандидат медичних наук, доцент

Олена ТІТКОВА

