

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

*завідувачки кафедри ендокринології ЛНМУ імені Данила Галицького,
д.мед.н., професора Урбанович Аліни Мечиславівни на дисертаційну
роботу Ризничук Мар'яни Олександрівни «Вітамін D, поліморфізми гена
його рецептора при низькорослості у дітей: клініко-генетичне
дослідження», поданої на здобуття наукового ступеня доктора медичних
наук за спеціальністю 14.01.14 – „Ендокринологія”*

1. Актуальність обраної теми дисертації

Низькорослість займає значне місце серед різноманітної патології в дитячій ендокринології. Етіологічні чинники, які призводять до затримки росту різноманітні - соматичні захворювання (патологія серцево-судинної системи, кісткової системи, шлунково-кишкового тракту, тощо), генетичні поломки та гормональні порушення. Крім того, за останні десятиліття був досягнутий величезний прогрес у виявленні моногенних причин порушень росту.

Активна форма вітаміну D₃ (1,25(OH)₂D₃) – належить до групи стероїдних гормонів. Він регулює, безпосередньо чи опосередковано, понад двохсот генів (0,5-5 % від усього геному) і залучений до різноманітних клітинних процесів, таких як ріст, ДНК-репарація, диференціація, апоптоз, мембранний транспорт, клітинна адгезія, оксидативний стрес, метаболізм глюкози. У клітинах різних органів і тканин виявлено специфічні рецептори вітаміну D (Vitamin D Receptors (VDR)). Це дозволяє класифікувати даний вітамін як D-гормон. Його функція полягає у здатності генерувати й модулювати біологічні реакції в тканинах-мішенях за рахунок регуляції транскрипції генів. Рецептор вітаміну D належить до сімейства ядерних рецепторів, необхідних для реалізації дії стероїдних гормонів (тестостерон, естрадіол, кортизол, альдостерон). Гормональна система вітаміну D, основними компонентами якої є 1,25(OH)₂D₃ і VDR, відіграє важливу роль не тільки в регуляції функціональних і метаболічних процесів організму, але

й у розвитку багатьох патологічних станів, серед яких є і порушення росту. Рецептори вітаміну D значно поширені в організмі, вони виявлені в більшості органів і тканин, причому не тільки в таких класичних органах-мішенях вітаміну D, як кишечник, нирки й кістковий апарат, але й у мозку, серці, підшлунковій і прищитоподібних залозах, шкірі, статевій системі, легенях, жировій тканині, міокарді та інших органах і тканинах. Ген *VDR* локалізований у 12-й хромосомі (регіон 12q13). Його алельні варіанти виділяють за відповідними сайтами розпізнавання ендонуклеаз (рестриктаз). Інтерес дослідників викликають наступні поліморфізми гена *VDR* – TagI (rs731236), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232), що є найбільш перспективними в клініко-діагностичному аспекті. Під час нормального онтогенезу ген *VDR* впливає на загальний вміст кісткової тканини в організмі й довжину тіла.

Тому, великий науковий та практичний інтерес викликає вивчення вітаміну D та його вплив на ріст дитини, особливо на гормональну вісь гормон росту/інсуліноподібний чинник росту-1. Практично не вивчено вплив поліморфізмів гена *VDR* та гена *COL1A1* на розвиток низькорослості у дітей. З огляду на це, представлена робота є актуальною і своєчасною.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт, які виконувалися в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка НАМН України», а саме: «Вивчити стан системи гормон росту/ростові фактори у дітей та підлітків в залежності від забезпеченості вітаміном D» (2019-2021 рр. номер держреєстрації 0118U002162); «Вивчити стан системи гормон росту/ростові фактори у дітей та підлітків з ендокринною патологією в залежності від забезпеченості вітаміном D і варіантів поліморфізму гена його рецептора» (2022-2024 рр. номер держреєстрації 0122U000420).

2. Новизна дослідження та одержаних результатів.

При проведенні наукового дослідження авторкою проведено комплексне дослідження системи гормон росту/інсуліноподібний чинник росту 1 у дітей препубертатного віку із різними формами низькорослості (дефіцит гормону росту, ідіопатична низькорослість, синдром біологічно неактивного гормону росту, затримка внутрішньоутробного розвитку) залежно від забезпеченості вітаміном D.

Вперше вивчено забезпечення вітаміном D у дітей із різними формами низькорослості та вісь ГР/ІПЧР-1, а саме: дефіцитом гормону росту, ідіопатичною низькорослістю, синдромом біологічно неактивного гормону росту та низькорослістю на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку.

Встановлено, що у 90,4% обстежених, із низькорослістю виявлено недостатність або дефіцит вітаміну D. Виявлено кореляційні зв'язки між рівнем гормону росту (базальним та стимульованим), рівнем інсуліноподібного чинника росту-1 залежно від вмісту вітаміну D у плазмі крові у дітей із дефіцитом гормону росту та ідіопатичною низькорослістю.

Доведено існування тісного взаємозв'язку між рівнем віт. D та інсуліноподібним чинником росту-1, рівнем гормону росту, кістковим віком в дітей із різними формами низькорослості.

Вперше в Україні доведено наявність зв'язку між поліморфізмами гена *VDR* та дефіцитом гормону росту в дітей. У роботі показано, що наявність гетерозиготних поліморфізмів гена *VDR* BsmI (G/A), TagI (T/C) та ApaI (C/A) при дефіциті гормону росту підвищують ризик розвитку даної патології.

Було доведено, що при наявності гетерозиготних поліморфізмів BsmI (G/A) та TagI (T/C) гомозиготного поліморфізму BsmI (A/A) гена *VDR* у дітей підвищується ризик розвитку ідіопатичної низькорослості.

Встановлено, що наявність гомозиготних патологічних поліморфізмів BsmI (A/A) та TaqI (C/C) гена *VDR* ризик розвитку синдрому біологічно неактивного гормону росту в дітей підвищується.

Вперше в Україні доведено, що в пацієнтів із затримкою росту на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку та за наявності гетерозиготних

поліморфізмів (BsmI (G/A), TaqI (T/C) та ApaI (A/C) гена *VDR* ризик даної патології достовірно зростає.

3. Практичне значення результатів дослідження

Встановлений здобувачкою суттєвий дисбаланс вітаміну D більшості дітей із різними формами низького росту передбачає необхідність обов'язкового дослідження вмісту вітаміну D до початку лікування патології.

Вперше в Україні доведено, що наявність окремих поліморфізмів у гомо- або в гетерозиготному стані впливає на розвиток тієї чи іншої форми низькорослості, що можна враховувати при консультуванні сімей із низькорослістю.

Встановлено, що у популяції обстежених дітей на наявність поліморфізму +1245 G/T (rs1800012) гена *COL1A1* лише 2,21% осіб є носіями патологічного гомозиготного поліморфізму G/G. Носіями гетерозиготного поліморфізму G/T є 33,09% пацієнтів із різними формами низькорослості, які мають дефіцит віт. D, що потребує вчасної корекції останнього для профілактики остеопорозу в дорослому віці.

Отримані дані можуть бути рекомендовані до внесення до Протоколів обстеження та лікування пацієнтів із різними формами низького росту, а саме: на тлі дефіциту гормону росту, ідіопатичної низькорослості, синдрому біологічно неактивного гормону росту та низькорослості на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку та рекомендується впровадити результати дослідження при консультації сімей із низькорослістю.

Результати дослідження відображені у Технології «Спосіб визначення ризику розвитку соматотропної недостатності у дітей з низькорослістю», Технології «Спосіб визначення ризику розвитку ідіопатичної низькорослості у дітей з відставанням в рості». Також отримано патент на корисну модель «Спосіб лікування низькорослості у осіб препубертатного віку із затримкою внутрішньоутробного розвитку».

4. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Результати дослідження впроваджено в роботу лікувальних закладів України: поліклінічне відділення ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка НАМН України» (м. Київ), КНП «Хмельницька міська дитяча лікарня» (м. Хмельницький), КНП «Чернівецька обласна дитяча клінічна лікарня» (м. Чернівці), ТОВ «МАК-МЕДИК» Чернівецької області, КНП «Івано-Франківська обласна дитяча клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради» (м. Івано-Франківськ), КНП «Бучанський центр первинної медико-санітарної допомоги» (Київська область, м. Буча).

Теоретичні положення та практичні рекомендації дисертаційної роботи впроваджені у Технології «Спосіб визначення ризику розвитку соматотропної недостатності у дітей з низькорослістю», Технології «Спосіб визначення ризику розвитку ідіопатичної низькорослості у дітей з відставанням в рості», використовуються в поліклінічному відділенні та відділенні дитячої ендокринної патології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», використовуються в лекційних матеріалах на кафедрі ендокринології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика.

5. Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 37 наукових праць: 14 статей у наукових фахових виданнях України, які індексуються в міжнародних наукометричних базах даних (Scopus), та 6 статей у журналах категорії Б, 17 тез в матеріалах міжнародних та всеукраїнських з'їздів та науково-практичних конференцій.

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Усі рекомендації, висновки, твердження, що містяться в дисертаційній роботі, науково обґрунтовані, достовірні, логічні. Дослідження виконано на сучасному науково-методичному рівні із використанням принципів доказової медицини. Методики, які використані авторкою в дослідженні, інформативні та актуальні. Наукові положення, висновки, практичні рекомендації, які

сформульовані в дисертаційній роботі, отримані на достатньому фактичному матеріалі.

У процесі дослідження обстежено 136 дітей препубертатного віку із різними формами низького росту, а саме з дефіцитом гормону росту, ідіопатичною низькорослістю, синдромом біологічно неактивного гормону росту та низькорослістю на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку. Достатня для статистичної обробки кількість досліджень і клінічних спостережень дозволяють вважати отримані результати достовірними. Методи статистичного аналізу, які були використані в роботі, адекватні. Статистичний аналіз результатів дослідження проведений коректно, на сучасному рівні, за допомогою стандартних програм статистичного аналізу. Вірогідність отриманих наукових результатів підтверджена на практиці в основних та контрольних групах.

Робота добре ілюстрована. Наведені в роботі таблиці і рисунки переконливі. Висновки конкретні, лаконічні, і повністю підтверджуються результатами дослідження. Викладені в роботі наукові положення та рекомендації науково обґрунтовані.

7. Оцінка змісту, оформлення та обсягу дисертації, зауваження щодо оформлення

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 380 сторінках друкованого тексту (список використаних джерел займає 60 сторінок), класично структурована. Складається із анотації, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, семи розділів власних досліджень, їх обговорення, висновків, практичних рекомендацій і списку використаних джерел, що включає 69 кирилицею і 390 латиною. Робота ілюстрована 70 рисунками та 132 таблицями.

Дисертаційна робота написана грамотною, літературною українською мовою. Розділи дисертації написані логічно, дотримано наукового стилю у написанні роботи.

У **вступі** визначені актуальність та наукова новизна проблеми дослідження, сформульовані мета і завдання роботи, дана характеристика об'єкта та предмета дослідження, вказані практичне значення роботи, особистий внесок дисертанта та відомості про апробацію матеріалів дисертації.

Перший розділ дисертації написаний із дотриманням літературних норм; містить огляд літературних джерел за обраною темою дослідження, які розкривають проблему діагностики дефіциту гормону росту, ідіопатичної низькорослості, синдрому біологічно неактивного гормону росту, низькорослості на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку, питання обміну та дефіциту вітаміну D, а також описані поліморфізми гена рецептора вітаміну D та їх роль у патогенезі затримки росту та поліморфізм гена колагену типу I (*COL1A1*).

У розділі «**Матеріали і методи**» надається характеристика пацієнтів, клінічних, лабораторних, інструментальних, генетичних і статистичних методів дослідження, наводиться дизайн дослідження. Дуже ретельно та докладно описується схема обстеження пацієнтів із дефіцитом гормону росту (42 дитини), ідіопатичною низькорослістю (41 дитина), синдромом біологічно неактивного гормону росту (17 дітей) та низькорослості на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку (36 дітей) згідно останнім актуальним міжнародним протоколам.

Методи дослідження є цілком сучасними та повністю відповідають завданням роботи. Проведено визначення поліморфізмів гена *VDR* та *COL1A1* у дітей із низькорослістю за допомогою молекулярно-генетичного методу – полімеразної ланцюгової реакції.

Усі дослідження виконані у сертифікованих лабораторіях.

Розділ 3 присвячений оцінці ауксологічних та гормональних показників, вмісту вітаміну D у пацієнтів із різними формами низькорослості. Викладений на 33 сторінках друкованого тексту. Усіх пацієнтів поділено на чотири групи залежно від форми низькорослості.

Проведений порівняльний аналіз між показниками, що вивчалися в основних групах. Також у даному розділі відображено результати кореляційного аналізу та визначено наявність зв'язків між ауксологічними та гормональними показниками залежно від рівня віт. D у дітей із різними формами низькорослості.

Для відображення результатів даного фрагменту роботи здобувачкою систематизовано отримані дані та проведена їх статистична обробка за допомогою сучасних статистичних методів дослідження.

Розділ доповнений 19 рисунками та 16 таблицями, які підтверджують достовірність отриманих даних.

Розділ 4 присвячений ролі поліморфізмів гена *VDR*, а саме: BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232), та поліморфізму гена колагену першого типу *COL1A1* +1245 G/T (rs1800012) у дітей із дефіцитом гормону росту. Викладений на 39 сторінках друкованого тексту, та ілюстрований 10 рисунками та 29 таблицями.

Показано, що гетерозиготні варіанти поліморфізмів BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232) гена *VDR* є достовірними чинниками ризику розвитку дефіциту гормону росту. У всіх досліджуваних виявлено недостатність або дефіцит вітаміну D.

При вивченні поліморфізму *COL1A1* у пацієнтів із дефіцитом гормону росту за умов наявності гетерозиготного поліморфізму G/T виявлений ризик розвитку дефіциту гормону росту, але не достовірно.

Найбільш частим поєднанням поліморфізмів був генотип G/A(BsmI) +T/C (TaqI)+ A/C(ApaI), який траплявся у 38,12% осіб.

Розділ 5 присвячений результатам, отриманим у процесі вивчення розподілу поліморфізмів гена рецептора вітаміну D та гена колагену 1-го типу у пацієнтів із ідіопатичною низькорослістю. Розділ викладений на 44 сторінках друкованого тексту.

Дуже цікавим є проведений авторкою порівняльний аналіз частоти та розподілу алелів та генотипів, а також вмісту вітаміну D залежно від певного

генотипу у пацієнтів із ідіопатичною низькорослістю. Встановлено, що наявність у пацієнтів із ідіопатичною низькорослістю поліморфізму BsmI G/A та A/A ризик патології достовірно підвищувався. У дітей-гомозигот A/A виявлено дефіцит віт. D, а в дітей-гетерозигот G/A виявлено його недостатність. Також за наявності поліморфізму rs731236 TaqI гена *VDR* T/C ризик ідіопатичної низькорослості достовірно високий. У дітей-гомозигот T/T виявлено дефіцит віт. D, а в дітей-гомозигот C/C та гетерозигот T/C виявлено його недостатність.

У дітей із ідіопатичною низькорослістю найбільш частим був генотип G/A(BsmI) +T/C (TaqI)+ A/C(ApaI) (29,26%).

Розділі 6 присвячений результатам, отриманим у процесі вивчення розподілу поліморфізмів гена рецептора вітаміну D та гена колагену 1-го типу у пацієнтів із синдромом біологічно неактивного гормону росту. Розділ викладено на 33 сторінках друкованого тексту та проілюстрований 9-ма рисунками та 26 таблицями.

Показано, що у пацієнтів із синдромом біологічно неактивного гормону росту та за наявності патологічного варіанту A/A поліморфізму BsmI гена *VDR* ризик даної патології зростає. У дітей гетерозигот G/A та гомозигот G/G виявлено дефіцит віт. D, а в дітей гомозигот A/A – його недостатність.

Також, за наявності патологічного варіанту C/C поліморфізму TaqI гена *VDR* ризик розвитку синдрому біологічно неактивного гормону достовірно зростає. У дітей гомозигот T/T та C/C виявлено дефіцит віт. D, а в дітей гетерозигот T/C – його недостатність.

Найбільш частим генотипом у дітей із синдромом біологічно неактивного гормону росту було поєднання G/A (BsmI) +T/C (TaqI)+ A/C(ApaI)+ GG (+1245 G/T) – 23,53%.

Вкрай вагомий та цікавий розділ роботи – **розділ 7**, присвячений низькорослості на тлі затримки внутрішньоутробного розвитку та викладеному на 32 сторінках друкованого тексту. Показано, що у пацієнтів із затримкою внутрішньоутробного розвитку за наявності варіанту G/A

поліморфізму BsmI, T/C поліморфізму TaqI та A/C поліморфізму ApaI гена *VDR* ризик даної патології достовірно зростає. У дітей із даною патологією найбільш частим був генотип G/A (BsmI) +T/C (TaqI)+ A/C(ApaI)+ GG (+1245 G/T) (30,54%).

У розділі «**Аналіз та узагальнення результатів дослідження**» об'єднано і систематизовано отримані результати дисертаційної роботи, проведений їх порівняльний аналіз. Дисертантка науково обґрунтовує індивідуальне бачення вирішення питань, які стосуються проблеми дослідження. Розділ викладено на 16 сторінках.

Варто відзначити, що авторкою проведено ґрунтовний аналіз порушень вісі ГР/ППЧР-1 та впливу зниженого рівня вітаміну D на процеси росту у дітей. Окрему увагу приділено вивченню поліморфізмів гена *VDR* та їхньої ролі в патогенезі низькорослості.

Зміст розділу свідчить про високий рівень обізнаності здобувачки з актуальними науковими підходами в межах обраного напрямку дослідження. Представлений аналіз доповнено обґрунтованими рекомендаціями, що сприяють підвищенню ефективності діагностики та диференціації різних форм низькорослості у дитячому віці.

Висновки є чіткими, підтвердженими кількісними даними, повністю відповідають меті й завданням дослідження, а також підкреслюють його клінічну значущість та наукову новизну.

Практичні рекомендації мають аргументоване підґрунтя й можуть бути впроваджені в діяльність закладів охорони здоров'я лікувально-профілактичного профілю. Вони спрямовані на оптимізацію діагностичних підходів до різних форм низькорослості з урахуванням генетичних особливостей, зокрема поліморфізмів гена *VDR*.

Дисертація написана правильною літературною мовою, наявні поодинокі орфографічні та стилістичні помилки, які не впливають на загальне позитивне враження від цієї наукової роботи.

У порядку наукової дискусії виникли такі питання:

1. У вашій роботі вказано, що при різних поєднаннях поліморфізмів може виникати те чи інше порушення росту в дітей на тлі низького вмісту вітаміну D. Яким чином поліморфізми гена *VDR* можуть змінювати ефективність взаємодії вітаміну D з клітинами-мішенями?

2. Чи можлива персоналізована терапія вітаміном D з урахуванням поліморфізмів *VDR*?

Узагальнюючи результати виконаного дисертаційного дослідження, слід відзначити, що робота Ризничук М.О. «Вітамін D, поліморфізми гена його рецептора при низькорослості у дітей: клініко-генетичне дослідження» є комплексним науковим дослідженням, яке присвячене актуальній проблемі дитячої ендокринології – вивченню ролі вітаміну D та генетичних детермінант у розвитку різних форм низькорослості у дітей. Дисертація має міждисциплінарний характер і становить науковий інтерес для ендокринологів, педіатрів, генетиків і фахівців загальної медичної практики.

Висновок

У дисертації Ризничук М.О. проведено поглиблений аналіз взаємозв'язків між показниками вісі гормон росту/інсуліноподібний чинник росту-1/вітамін D та генетичними варіантами (*BsmI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236), *ApaI* (rs7975232)) гена *VDR*. Отримані результати дозволили сформулювати нові підходи до оцінки ризику розвитку різних форм низькорослості, включаючи ідіопатичну низькорослість, дефіцит гормону росту, синдром біологічно неактивного гормону росту, а також затримку росту, пов'язаної з внутрішньоутробною затримкою розвитку.


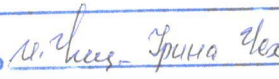
Робота вирізняється високим рівнем методичного виконання, науковою новизною та практичною значущістю. Отримані результати можуть бути рекомендовані для впровадження у клінічну практику та поглиблюють сучасні уявлення про патогенез порушень росту в дітей.

На підставі вищенаведеного, а також враховуючи відповідність дисертації Ризничук М.О. вимогам пунктів 7, 8, 9 «Порядку присудження та

позбавлення наукового ступеня доктора наук» (Постанова Кабінету Міністрів України від 17.11.2021 № 1197), вважаю, що дисертаційна робота заслуговує позитивної оцінки, а її авторка – присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія.

Завідувачка кафедри ендокринології
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
докторка медичних наук, професорка



Підпис		Аліна УРБАНОВИЧ
Свідчую		
Провідний фахівець відділу кадрів ДНП "ЛМНУ імені Данила Галицького"		