

## ВІДГУК

рецензента на дисертаційну роботу  
Шиманської Іванни Єлисеївни  
«Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними  
порушеннями та хворобою Вільсона»  
що представлена на здобуття ступеня доктора філософії  
за спеціальністю 091 Біологія

**Актуальність роботи.** Робота присвячена вирішенню актуальної науково-практичної проблеми: розробці та оптимізації алгоритму генетичного тестування поширених спадкових чинників гепатобіліарних порушень. Зокрема проведено дослідження частоти та спектру мутацій гена *ATP7B* серед пацієнтів з підозрою хвороби Вільсона. В Україні такі дослідження проводяться вперше.

Особливою заслугою цієї дисертаційної роботи вважаю експериментально встановлену популяційну частоту гетерозиготного носійства мутації с.3207C>A гена *ATP7B* в Україні. Вона (частота носійства), за даними авторів складає 1,8% і є значно вищою від теоретично прогнозованої частоти.

З метою вивчення внеску мутацій гена *ATP7B* в генез ідіопатичних ураженнях гепатобіліарної системи в перелік досліджених нозологій, окрім хвороби Вільсона, віднесено спадковий гемахроматоз та синдром Жильбера. Встановлено частоти мутації с.3207C>A гена *ATP7B*, яка зумовлює хворобу Вільсона, серед вибірки осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями. Визначено інформативну цінність генетичного тестування різних алельних варіантів гена *ATP7B*, *HFE* та гена *UGT1A1* для диференційної діагностики гепатобіліарних порушень нез'ясованого генезу.

Отримані результати вказують на значно вищу від очікуваної частоту хвороби Вільсона в Україні, її гіподіагностику та потребу підвищення настороженості лікарів щодо цієї генетичної хвороби в усіх випадках ідіопатичних гепатобіліарних порушень в осіб молодого віку. Відсутність кільця Кайзера у переважної більшості пацієнтів свідчить про його низьку діагностичну значимість для цього моногенного захворювання. Зважаючи на доступність ефективної терапії, при ідіопатичних гепатобіліарних захворюваннях рекомендовано проводити генетичне тестування мажорних мутацій генів *ATP7B*, *HFE* та *UGT1A1*.

Дисертаційна робота відповідала основному плану науково-дослідницьких робіт "Інститут спадкової патології НАМН України" і виконувалась в рамках відповідних комплексної НДР.

Дисертантом проведено весь обсяг молекулярно-генетичної експериментальної частини дисертації, пошук та опрацювання літературних джерел та написання тексту дисертаційної роботи. Робота у співавторстві чітко представлена у дисертації.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами.**

Дисертанткою опрацьована значний об'єм сучасної літератури за темою дослідження, використано сучасні методи для проведення молекулярно-генетичних досліджень: класична ПЛР та її модифікації (RT-PCR, Bi-PASA, метод рестрикційного аналізу, аналіз кривих плавлення високої роздільної здатності (HRM), аналіз MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification), метод секвенування за Сенгером, KASP (конкурентна алель-специфічна ПЛР).

Шиманською І.Є. зібрано достатній об'єм експериментального матеріалу, самостійно виконано більшість молекулярно-генетичних досліджень, професійно проаналізовано і узагальнено отримані результати, сформульовано висновки та розроблено алгоритм.

Дисертаційна робота відповідає плану наукових досліджень ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» виконувалась у межах двох комплексних тем: "Дослідження генетичних чинників обтяженого клінічного перебігу моногенних і мультифакторних захворювань" (№ держ. реєстрації 0117U000655, 2017 –2019 рр.), «Аналіз чинників ранньої діагностики генетично зумовленої патології людини на прикладі вибраних моногенних та мультифакторних хвороб» (№ держ. реєстрації 0117U000655, 2020 –2021 рр.)

**Достовірність і новизна отриманих результатів.** *Наукова новизна одержаних результатів* полягає в тому, що вперше розроблено та оптимізовано алгоритм генетичного тестування поширених спадкових чинників гепатобіліарних порушень, експериментально встановлено частоту гетерозиготного носійства мутації c.3207C>A гена *ATP7B* серед загальної вибірки жителів України; показано, що міссенс-заміна c.3207C>A в гені *ATP7B* є мажорною для пацієнтів з хворобою Вільсона в Україні, частота цього алелю серед верифікованих випадків становить 76,8%.

**Практичне значення роботи** впливає з її новизни, поскільки запропонований алгоритму генетичного обстеження осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями дозволить своєчасно вичленити сім'ї високого ризику та проводити відповідні профілактичні та прекоцепційні заходи.

Створено банк ДНК пацієнтів з високим ризику хвороби Вільсона та членів їх родин. Впроваджено для застосування у медичній практиці

молекулярно-генетичну діагностику частих мутацій гена *ATP7B* при підозрі хвороби Вільсона. Із застосуванням різних методів молекулярно-генетичного дослідження у 27 осіб встановлено діагноз хвороба Вільсона, серед них у 9 в дитячому віці та у 3 на доклінічній стадії. Прийом відповідної терапії у цих пацієнтів зупинив прогресування хвороби у 100% випадків, та значний регрес клінічних уражень у 65% пацієнтів.

Отримані результати вказують на значно вищу очікувану частоту хвороби Вільсона, її гіподіагностику та потребу підвищення настороженості лікарів щодо цієї генетичної хвороби в усіх випадках ідіопатичних гепатобіліарних порушень в осіб молодого віку. Наявність кільця Кайзера було зафіксовано у 7% генетично верифікованих випадків хвороби Вільсона, що свідчить про його низьку діагностичну значимість для цього моногенного захворювання.

**Якість використаних для досліджень методів, репрезентативність отриманих результатів.** Методи дослідження адекватно підібрані та добре представлені в дисертаційній роботі. Детально охарактеризовано об'єкт, предмет дослідження та методи статистичного опрацювання результатів.

Вважаю, що проведені вперше в Україні дослідження слід продовжити.

**Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи.** Дисертаційна робота викладена на 154 сторінках тексту, матеріали дисертації проілюстровано 19 таблицями та 30 рисунками. Список використаних джерел налічує 150 найменувань, з яких 121 – в англійських виданнях. Виклад матеріалу логічно пов'язаний з поставленою метою та завданнями, висновки відповідають поставленим завданням. У дисертації представлені усі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних експериментальних досліджень, обговорення результатів досліджень, узагальнення, висновки, практичні рекомендації. Власні результати викладені у чотирьох підрозділах. У розділах «Узагальнення результатів» та «Висновки» підсумовані отримані результати.

**Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях.** Основні положення дисертаційної роботи представлено у 14 наукових працях, з яких 5 статей у фахових періодичних виданнях, в тому числі одна у виданні, що індексується в наукометричній базі Scopus, дві статті у закордонних виданнях, а також 7 тез доповідей на науково-практичних конференціях. Результати досліджень доповідалися та були обговорені на наукових форумах в Україні та за кордоном.

### **Питання та зауваження:**

1. Слід уніфікувати Вільсона чи Вільсона-Коновалова
2. Не зовсім чітко охарактеризована обстежена популяція (українці, західноукраїнська популяція, пацієнти українського походження). Не зовсім вдалий підпис до рис. 3.25. Територіальний розподіл пацієнтів з України з генетично верифікованим діагнозом хвороба Вільсона.
3. Слід уніфікувати різнобій в характеристиці частот: 1:57 (1,8%), 1 на 40, 113/196, (два пацієнти), (три пацієнти),...
4. Дисертант зазначає «значний регрес клінічних уражень у 65% пацієнтів» (ст. 4). Питання: яким способом оцінено регрес і чи це входить у Вашу компетенцію?
5. Виявлено ряд недоречностей, зокрема: «Оскільки, мутація с.2304dupC виявлена в чотирьох пацієнтів з дослідженої вибірки, вважаємо її частою для жителів України» (ст. 95); «З часу впровадження в практику генетичного тестування переважаючої для нашої популяції мутації с.3207C>A гена *ATP7B* генетично верифіковано діагноз у...» (ст. 96); «Серед усіх випадків, які були верифіковані в ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» менше третини діагностовано нами в дитячому віці (уточнити). Зважаючи на важливість вчасної діагностики даного захворювання прояви в дитячому віці мають викликати особливу настороженість у лікарів. (ст. 97)
6. Пропоную оптимізувати «новизну роботи», вважаю, що особлива цінність праці полягає у розробці алгоритму вивчення внеску обстежуваних ділянок геному в досліджувані нозології.
7. Не зовсім співпадають поставлені завдання роботи та висновки. Рекомендую детальніше над цим попрацювати.

**Висновок.** Дисертаційна робота Шиманської Івонни Єлисеївни «Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона» є завершеною науково-дослідною роботою, в якій запропоновано систему молекулярно-генетичних досліджень, що полягає у встановленні популяційних частот генетичних чинників гепатобіліарних порушень та визначенні частки серед них мутацій гена *ATP7B*. Отримані дані є вагомим внеском у фундаментальні дослідження щодо визначення інформативності генетичного тестування алельних варіантів генів *ATP7B*, *HFE*, *UGT1A1* серед пацієнтів молодого віку з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями, а також мають практичне значення, оскільки розроблений алгоритм досліджень може бути використаний для надання допоміжних діагностичних та прогностичних оцінок цієї патології.

Дисертаційна робота «Мутації гена *ATP7B* серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона» за своєю актуальністю, новизною, теоретичним значенням та практичною цінністю, глибиною та обсягом проведених досліджень цілком відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44, а її авторка, Шиманська Іванна Єлисеївна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний рецензент  
кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри генетики та біотехнології  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка, доц.

Наталія МАТІЙЦІВ