

РІШЕННЯ СПЕЦІАЛІЗОВАНОЇ ВЧЕНОЇ РАДИ ПРО ПРИСУДЖЕННЯ СТУПЕНЯ ДОКТОРА ФІЛОСОФІЇ

Спеціалізована вчена рада **ДФ 35.051.074** Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів, прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» на підставі прилюдного захисту дисертації «Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона» за спеціальністю 091 «Біологія» 20 вересня 2022 року.

Шиманська Іванна Єлисеївна, 13.01.1993 року народження, громадянка України, освіта повна вища. У 2017 році закінчила біологічний факультет Львівського національного університету імені Івана Франка, здобула освітній ступінь магістра за спеціальністю «Генетика» та отримала кваліфікацію «Магістр генетики. Викладач».

З 10.2015 р. по 10.2017 р. працювала на посаді лаборанта відділення діагностики спадкової патології ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», м. Львів, а з 11.2017 року по даний час працює на посаді молодшого наукового співробітника відділення діагностики спадкової патології ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», м. Львів.

З 09.2020 р. по даний час навчається в аспірантурі на кафедрі генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка (заочна форма навчання).

Дисертаційну роботу виконано на базі лабораторії генетичних досліджень відділення діагностики спадкової патології ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» (м. Львів) в рамках наукової співпраці з Ризьким університетом ім. П. Страдіня (м. Рига, Латвія) та Національним університетом «Ряшівська політехніка» (м. Ряшів, Польща).

Наукові керівники: доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник відділення діагностики спадкової патології ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» **Макух Галина Василівна;**

доктор біологічних наук, завідувач кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка, професор **Федоренко Віктор Олександрович.**

Здобувачка має 14 наукових публікацій за темою дисертації, з них 2 статті у періодичних наукових виданнях інших держав, 4 статті у наукових фахових виданнях України, 0 монографій, зокрема:

1. Makukh H., Hayboniuk (Shymanska) I., Zarina A., Semeriak O. M., Gailite L. Mutations in the *ATP7B* Gene in Ukrainian Patients with High Risk of Wilson's Disease, *Cytol Genet.*, 2020, vol. 54, no. 4, pp. 324–332. (Scopus).
2. Гайбонюк (Шиманська) І.Є., Макух Г.В. Аналіз низько функціональної алелі 7(TA) гена *UGT1A1* серед вибірки практично здорових осіб Західного регіону України. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, Серія «Біологія»*. 2019. № 33. С.28-34.

3. Гайбонюк І. Спектр і частота мутацій гена *ATP7B* в різних популяціях та етнічних групах. *Вісник Львівського університету: Серія біологічна*. 2019. № 80. С. 3-12.

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради та присутні на захисті фахівці:

1. Осташ Богдан Омелянович, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка, без зауважень.

2. Федота Олена Михайлівна, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри акушерства та гінекології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, надала позитивний відгук із зауваженнями:

Зауваження щодо форми вираження думок та подання матеріалів у роботі:

1. Порушення пунктуації та неузгодженість слів у реченнях, повтори абзаців тексту (с.21, с.84), замість посилань на номери джерел – джерела (с.20), друкарські помилки. Невдалі, некоректні висловлювання загального характеру (с.63. «Температуро – часові показники», С. 87 – «алель-ризику... алель ризику»). У математичному запису рівняння Харді-Вайнберга замість показника ступеня встановлено коефіцієнт 2 після змінних, що надає інший зміст рівнянню (с. 73). Є невідповідність нумерації таблиць та посилань на них у підрозділі 3.3.

2. У переліку наукових праць позиція 10 не містить вихідних даних.

3. В Огляді літератури окремі підрозділи (наприклад, розділ 1.1., який займає дві сторінки), містять одно посилання на джерело. Подібні зауваження до розділів 1. 1. 1., 1.3. та інших.

У розділі Матеріали та методи на с.58. немає посилання на джерела, з яких отримано послідовності праймерів, використаних у роботі.

4. Наведених автором методів дослідження на с.61, «аналіз генеалогічної інформації, лабораторні (ДНК-діагностика), статистична аналіз отриманих результатів», у представленому вигляді не існує.

5. У Результатах на с.116 таблиця 3.10 має назву «Зв'язок генотипу, фенотипу й біохімічних показників у дітей з генетично підтвердженим діагнозом хвороба Вільсона», але показників чи аналізу зв'язку автором не представлено. Крім того, біохімічні показники осіб, що мають відповідні діагнози, залишають враження перенесених з результатів біохімічного аналізу пацієнтів, без належного оформлення матеріалу у таблиці.

6. Уявляються недоречними багаторазові згадки «випадків», «клінічних описів», «несвоєчасної діагностики», рекомендації лікарям, наприклад, «мають викликати особливу настороженість у лікарів» та інші. Зауваження щодо діяльності колег інших спеціальностей є зайвими.

Питання та зауваження щодо термінології та змістовних позицій роботи:

7. Зауваження до назви роботи. Формулювання назви роботи не охоплює всю широту спектра матеріалів та результатів, представлених у роботі. З іншого боку, тема роботи затверджується на початку наукового шляху дисертанта, і в цьому

випадку авторка дисертації під керівництвом своїх наставників зробила кроки за межі поставлених на початкових етапах кордонів.

8. У розділі Матеріали та методи зустрівся термін «генетичний анамнез», який уявляється некоректним у згаданому контексті. Трапляються невдалі чи некоректні вирази, наприклад, «15 випадків гомозиготності» (с.112., с.115., с.129.), «Встановлено внесок спадкових мутацій гена *ATP7B*, *HFE* та *UGT1A1* в етіологію ідіопатичних гепатобіліарних захворювань в осіб молодого віку» (с.24), «носійство найпоширеніших спадкових генетичних чинників» («були обстежені на носійство найпоширеніших спадкових генетичних чинників»), с.99, с.125, та ін.

9. На с.111, у таблиці 3.8 очікувані ефекти наведених алелів представлено характеристиками з різних класифікацій.

10. У Результатах, на сторінці 114 в кінці розділу 3.3. та у висновку 3 представлено незрозумілі результати «У осіб з клінічними ознаками хвороби Вільсона, тобто тих, які набрали 3 та більше балів відповідно до бальної системи діагностичних тестів – у 43/56 (частота алелю 82,6%)». Далі вказано, що «Серед генетично верифікованих випадків частота мажорної мутації с.3207C>A (H1069Q) гена *ATP7B* сягає 88%, що вказує на...». В той же час у висновку 3 автор підсумовує, що «Серед осіб з України з хворобою Вільсона частота мажорної мутації с.3207C>A (H1069Q) гена *ATP7B* складає 82,6%».

11. На стор.4, позиція 2 наукової новизни містить дані, що «частота цього алелю (с.3207C>A в гені *ATP7B*) серед генетично підтверджених випадків становить 82,6%». Першоджерело - с. 112, де незрозумілою є таблиця 3.9 – автор називає представлені результати частотою алеля - «Частота алелю с.3207C>A серед генетично верифікованих випадків становить 82,6%», що не відповідає наведеним значенням,

12. Незрозумілою є фраза про частоту алелю в гомозиготному стані та наведені показники. «Апробовано різні молекулярно-генетичні підходи для визначення алелю A(TA)_nTAA гена *UGT1A1* і визначено його частоту (9,3%) в гомозиготному стані серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями». На с. 90 - «Генетичне тестування алелю A(TA)_nTAA гена *UGT1A1* серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями показало низьку частоту цього алелю в гомозиготному стані серед досліджуваної вибірки – 9,2% (4/43), не зважаючи на встановлену високу частоту алелю A(TA)_nTAA в популяції (35,0% - 165/488)». С. 124, Узагальнення - «Частота алелю A(TA)_nTAA в гомозиготному стані, який асоціюється з розвитком синдрому Жильбера серед вибірки практично здорових мешканців західних областей України, становить 12,2%». На с. 124 авторка пише «тестування алелю A(TA)_nTAA гена *UGT1A1* серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями дозволив встановити його частоту, яка становить 9,3% (4/43)».

13. На с.119 наведено «Базуючись на встановленому в роботі показнику гетерозиготного носійства мутації с.3207C>A серед мешканців західних областей України (1 на 57) та частці цього алелю серед пацієнтів з хворобою Вільсона (82,6%), частота гетерозиготного носійства різних мутантних алелів гена *ATP7B* сягає 1 : 43». Останній показник трапляється вперше у підсумковому абзаці та в Узагальненні.

14. На с. 123 узагальнено, що «частота гетерозиготного носійства мутації с.845G> A гена *HFE* у загальній вибірці мешканців західних областей України на

рівні 1,3%», що не відповідає даним у відповіднім розділі власних досліджень, тому не є підставою для обговорення.

15. Доцільно було б вказати у позиції 4 наукової новизни, показники з опублікованих даних, на які посилається автор для порівняння власних результатів. Тому далі з'являються загальні вирази, наприклад, Практичне значення – «Отримані результати вказують на вищу очікувану частоту генотипу хвороби Вільсона».

16. На ст. 4 представлено інформацію «Далі визначали частоту алельних варіантів гена *HFE*, для яких доведено асоціацію з розвитком спадкового гемохроматозу. *HFE* генотипи с.845G>A/с.845G>A; с.187C>G/с.845G>A виявлено у 5,8% осіб з гепатобіліарними порушеннями нез'ясованого генезу». У відповідному розділі власних досліджень було б доцільно надати детальну інформацію щодо вказаних отриманих даних.

17. Авторкою також неодноразово наведено окремі детальні описи абсолютної кількості осіб з визначеними генотипами, а не відносні, які не порівняно с даними літератури та не проаналізовано (с. 110, 112, 115-116, 125-130).

18. Згідно задачі 6, було б доцільно доповнити останній висновок інформацією щодо створеного алгоритму генетичного дослідження, оскільки результати та алгоритм представлені в роботі.

19. Які результати відповідають задачі 3?

20. Про які вибірки написано, якщо досліджується контрольна група, на стор. 88 – «Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в обох популяційних вибірках свідчить про випадковий розподіл генотипів у відповідності з розподілом Харді-Вайнберга»?

21. Як Ви пояснюєте результати (с. 89), згідно з якими у контрольній групі практично здорових осіб «Частота гомозиготного генотипу $A(TA)_n TAA/A(TA)_n TAA$, який асоціюється з розвитком синдрому Жильбера серед вибірки практично здорових жителів Західного регіону України становить 11,7%»? Вказані 11,7% осіб повинні бути хворі? Якщо ні, то чому?

Що відомо про генетичні особливості гомозигот за досліджуваним алелем?

22. З якою метою у підрозділі 3.3. на с.113 представлено територіальний розподіл пацієнтів з хворобою Вільсона?

23. Яким чином було оцінено «Ефективність впровадження в практику генетичного тестування мутацій с.3207C>A та с.2304dupC гена *ATP7B* серед осіб із підозрою хвороби Вільсона» (підрозділ 3.4.)? Аргумент «Оскільки, мутація с.2304dupC виявлена в чотирьох пацієнтів з дослідженої вибірки, вважаємо її частою для жителів України» не є переконливим.

24. Як було оцінено інформативність генетичного тестування алельних варіантів досліджуваних генів, про яку йдеться у узагальнюючому висновку?

3. Півень Оксана Олександрівна, доктор біологічних наук, професор, провідний науковий співробітник відділу генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, надала позитивний відгук із зауваженнями:

1. У тексті дисертації зустрічаються деякі технічні помилки невдалі вислови та формулювання, русизми: ст 29 «забрєднення довкілля»; ст 30 «у міру» - «мірою накопичення»; «Слід зазначити» - «Варто зауважити»; ст 32 «заміну цистеїну

на амінокислоту тирозином»; ст 32 - відсутнє посилання на літературу «році []»; «придумав термін» - коректно «запропонував термін»; ст 36 «наймолодшим пацієнтом, кому підтвердили діагноз, було 3 роки»; ст 42 «діагнозом хворобою Вільсона»; ст 43 «процеси відобразяться»; ст 49 «в органах» та інші.

2. На Рисунку 3. 2. Електрофореграма детекції мутації Н1069Q (*c.3207 C>A*) гена *ATP7B* вочевидь закралась помилка у підписах, оскільки на електрофореграмі представлено аналіз 6 продуктів ПЛР та 1 зразок – маркер молекулярної ваги, тобто загалом 7, однак підписи містяться лише для 6 зразків включно з маркером під цифрою 1. Також виникають сумніви що до правильності підписів зразків під рисунком, наприклад 3, 5 – наявність мутації Н1069Q в гетерозиготному стані (генотип *c.3207 CA*), хоча візуально продукти на доріжках 3 та 5 вочевидь відрізняються. Окрім того на самій електрофореграмі відсутні цифрові позначення доріжок. Цікаво почути пояснення автора щодо цього.

3. На сторінці 80 «Даний фрагмент ДНК містить два сайти для ендонуклеази рестрикції *BclI*. За наявності предкового генотипу в гомозиготному стані на електрофореграмі візуалізується продукт розміром 138 п.н. та 70 п.н.» тут вочевидь йдеться про візуалізацію продуктів рестрикції?

4. На вашу думку які реальні перспективи та доцільність застосування HRM аналізу для встановлення різних варіантів гена *UGT1A1* у клінічній практиці?

5. Назва підрозділу «3.3 Результати секвенування послідовності гена *ATP7B* серед осіб високого ризику розвитку хвороби Вільсона» звучить не вдало. Ймовірно серед осіб із високим ризиком .

6. Скажіть будь ласка де нині, тобто в яких медичних та діагностичних закладах України уже використовується запропонований Вами алгоритм генетичної діагностики ідіопатичних гепатобіліарних порушень?

4. Матійців Наталія Петрівна, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, надала позитивну рецензію із зауваженнями:

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 *c.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 *c.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.

5. Голуб Наталія Ярославівна, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, надала позитивну рецензію із зауваженнями:

1. У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» підрозділі 2.1.2 «Збір генеалогічної інформації» Ви висали: «Родовід зображали схематично, стрілкою позначали пробанда. При графічному зображенні родоводів використовували загальноприйнятну систему умовних позначень». Не зрозуміло, у скількох пацієнтів досліджувані захворювання виявилися спадковими?

2. «Частота гетерозиготного носійства на рівні 1:57, практично співпадає з даними жителів Франції - 1:31». Чи можна стверджувати, що вони практично співпадають, оскільки різниця в частоті майже вдвічі. Частота носійства може бути статистично достовірною або недостовірною.

3. Що означає термін «практично здорові»?

4. Чи в осіб із однакою мутацією в межах сім'ї Ви спостерігали різницю у фенотипових проявах захворювання і яка з цього приводу існує інформація в літературі? Чи у пацієнтів із унікальними мутаціями Ви спостерігали неописані раніше симптоми?

Загальна оцінка роботи і висновок. Дисертаційна робота **Шиманської Івонни Єлисеївни** на тему «Мутації гена *ATP7B* серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями» є самостійно виконаним науковим дослідженням, завершеним в межах поставлених завдань, яке формує підґрунтя для поліпшення методів діагностики досліджуваної патології.

Дослідження можливих типів мутацій та частоти алельних варіантів гена *ATP7B* у пацієнтів із підозрою хвороби Вільсона, яке виконане дисертанткою, не лише значно розширює наші уявлення про генетику моногенних патологій взагалі та хвороби Вільсона зокрема, а має суттєву практичну цінність. Проведені дослідження стали основою створеного автором алгоритму генетичного тестування генів-кандидатів ідіопатичних гепатобіліарних порушень, також упроваджено у клінічну практику молекулярно-генетичну діагностику частих мутацій гена *ATP7B* методом ПЛР *Bi-PASA* та аналізом ПДРФ.

Окрім того, автором було проведено важливу просвітницьку роботу для пацієнтів, їхніх сімей та лікарів, а саме, видано інформаційний лист «Генетичне тестування мажорних мутацій гена *ATP7B* для пацієнтів з клінічними ознаками

хвороби Вільсона» (Рішення Вченої Ради ДУ «ІСП НАМН України» № 10 від 4 жовтня 2021 року). Матеріали дослідження Шиманської І.Є. можуть бути використані на практиці в молекулярно-генетичних лабораторіях та при медико-генетичному консультуванні.

За кількістю і рівнем публікацій, апробацією на наукових конференціях дисертація «**Мутації гена АТР7В у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона**» відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44), а її авторка, **Шиманська Іванна Єлисеївна**, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Результати відкритого голосування:

«За» – 5 членів ради,

«Проти» – 0 членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування спеціалізована вчена рада ДФ 35.051.074 Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів, присуджує **Шиманській Іванні Єлисеївні** ступінь доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Голова спеціалізованої
вченої ради
ДФ 35.051.074



проф. Богдан ОСТАШ



Осташа Б.О.