

ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА – ДОКТОРА БІОЛОГІЧНИХ НАУК
ПІВЕНЬ ОКСАНИ ОЛЕКСАНДРІВНИ
НА ДИСЕРТАЦІЙНУ РОБОТУ
ШИМАНСЬКОЇ ІВАННИ ЄЛИСЕЇВНИ

на тему «Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона», подану до захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

АКТУАЛЬНІСТЬ ОБРАНОЇ ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

В основі дисертаційного дослідження Шиманської Івонни Єлисеївни «Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона», представленого на здобуття наукового ступеня доктора філософії, покладено результати власного дослідження спектру та частоти алельних варіантів гена *ATP7B* у пацієнтів із підозрою хвороби Вільсона з України, окрім того метою автора було створити оптимальний алгоритм для покращення діагностування хвороби Вільсона в осіб молодого віку.

Хвороба Вільсона спадкове моногенне захворювання, що діагностується частіше всього у дорослому віці. Проте вчасна та коректна діагностика цієї патології ускладнена гетерогенністю клінічних проявів та широким спектром патогенних варіантів *ATP7B*, які у свою чергу частково залежать і від етнічних і популяційних особливостей. У зв'язку із цим дослідження спектру та частоти алельних варіантів гена *ATP7B* у пацієнтів із ознаками хвороби Вільсона є актуальною та важливою медико-генетичною задачею.

**ЗВ'ЯЗОК ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ З ДЕРЖАВНИМИ ЧИ
ГАЛУЗЕВИМИ НАУКОВИМИ ПРОГРАМАМИ**

Дисертаційна робота виконувалась у ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» в рамках комплексних досліджень що проводились у інституті: "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.)

Окрім того дослідження виконувалось в рамках міжнародної наукової співпраці згідно угоди ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» та Ризьким Медичним університетом імені П. Страдіня.

СТУПІНЬ ОБҐРУНТОВАНOSTІ ПОЛОЖЕНЬ, ВИСНОВКІВ ТА РЕКОМЕНДАЦІЙ, СФОРМУЛЬОВАНИХ У ДИСЕРТАЦІЇ, ЇХ ДОСТОВІРНІСТЬ І НОВИЗНА, ПОВНОТА ВИКЛАДЕННЯ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ

Дисертаційна робота І. Є. Шиманської є повноцінною та цілісною науковою роботою, яка до того ж пропонує не лише теоретичні знання а й є підґрунтям покращених методів діагностики досліджуваної патології. Дисертаційна робота має загальноприйнятту структуру та містить 4 розділи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати власних досліджень та їх обговорення, висновки, список використаних джерел. Дисертаційну роботу викладено на 154 сторінках друкованого тексту. Текст дисертації проілюстровано 19 таблицями та 30 рисунками.

Автором дуже детально проаналізовано сучасний стан проблеми, опрацювавши 150 джерел (з них 29 кирилицею та 121 – латиницею) визначено проблематику з досліджень спектру та частоти мутацій гена *ATP7B* серед пацієнтів з України, поставлено мету і завдання, сформульовано висновки відповідно поставленим завданням. Використаний в роботі методичний підхід, а саме постановка експериментальних досліджень відповідає сучасній науковій парадигмі.

Винесені на захист положення ґрунтуються на аналізі матеріалів власних досліджень, характеризуються науковою новизною і оригінальністю та потенціалом практичного застосування.

Зокрема, здобувачем було виявлено частоту гетерозиготного генотипу мутації *c.3207C>A* гена *ATP7B* серед загальної вибірки мешканців західних областей України (1:57,1,75%).

У дисертаційній роботі показано, що міссенс-заміна *c.3207C>A* в гені *ATP7B* є мажорною для осіб з хворобою Вільсона в Україні; вперше, із застосуванням методів секвенування геному, описано спектр мутацій досліджуваного гена що є типовими для пацієнтів із хворобою Вільсона.

Окрім того автором уточнено передбачувану частоту випадків випадків хвороби Вільсона становить 1:13061.

Матеріали роботи були оприлюднені у 14 наукових роботах серед яких 7 тез доповідей на міжнародних наукових конференціях та 7 статей у

наукових фахових виданнях, із яких 4 – у затверджених переліком МОН фахових виданнях України, в тому числі 1 стаття в журналі, що індексується в наукометричній базі Scopus, 2 – в іноземному виданні.

Таким чином, положення, що виносяться на захист, характеризуються новизною, достовірністю і повною мірою відображені у в наукових публікаціях.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

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

Окрім того, автором було проведено важливу просвітницьку роботу для пацієнтів їхніх сімей та лікарів, а власне 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).

ПИТАННЯ, ЩО ВИНИКЛИ ПРИ ОЗНАЙОМЛЕННІ З ДИСЕРТАЦІЄЮ

При розгляді змісту дисертації та автореферату виникли наступні зауваження та питання:

1. У тексті дисертації зустрічаються деякі технічні помилки, невдалі вислови та формулювання, русизми: ст 29 «забріднення докільля»; 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 (с.3207 С>А) 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 щодо правильності підписів зразків під рисунком, наприклад 3, 5 – наявність мутації H1069Q 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 є текст: «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 невдало. Ймовірно, ліпше написати «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?

Однак, зауваження та поставлені запитання не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не зменшують її наукової цінності. Зрештою хочу побажати дисертантці публікувати дані не лише у Вісниках, але й у міжнародних наукових виданнях з IF, тим більше, що і тема досліджень, і отримані дані цього заслуговують.

ВИСНОВОК ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ ДИСЕРТАЦІЇ ВСТАНОВЛЕНИМ ВИМОГАМ

Дисертаційна робота Шиманської Іванни Єлисеївни «Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона» є кваліфікаційною науковою працею, яка виконана здобувачем особисто, відповідає вимогам спеціальності 091 Біологія,

вимогам до оформлення дисертації, затвердженим Наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019) та вимогам 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 опонент:

доктор біологічних наук,
професор, провідний науковий
співробітник відділу генетики
людини Інституту молекулярної
біології і генетики НАН України

Півень О. О.