

ВІДГУК

на дисертаційну роботу **Матлай Ольги Іванівни "Зв'язок алельного поліморфізму гена метилентетрагідролатредуктази (MTHFR) з розвитком ішемічних інсультів"**, подану на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю **14.03.04 – патологічна фізіологія**

Актуальність теми дисертації. За даними Stroke Facts (2015) ішемічний інсульт є причиною кожної 20-ї смерті на сьогоднішній день у розвинених країнах світу. Зокрема, від даної недуги в США кожних чотири хвилини помирає людина, що загалом становить на рік 130 000 осіб; хворіють на інсульт близько мільйона людей і майже кожен четвертий випадок – це повторний напад. Серед усіх інсультів 87% належить ішемічним. Лікування таких пацієнтів обходиться тільки для США 34 мільярди доларів без вартості реабілітації. Окрім того, необхідно взяти до уваги, що інсульт є лідируючою причиною серйозних віддалених наслідків, що спричиняють інвалідність.

У створенні передумов появи та розвитку даного захворювання та низки інших гострих інвалідизуючих і соціально значимих судинних катастроф важливу роль відіграють генетичні чинники. Дисертант спрямувала свої дослідження на окремі ланки і складові патологічного процесу у розвитку ішемічного інсульту через вплив низки факторів ризику, у т.ч. молекулярно-генетичних, котрі регулюють вміст / активність фермента метилентетрагідролатредуктази (MTHFR), опосередковують накопичення гомоцистеїну, формування ендотеліальної дисфункції та медіують виникнення гострої судинної патології.

З огляду на вищевикладене, актуальність дисертаційної роботи не викликає сумнівів.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Рецензована робота є окремим фрагментом науково-дослідних тем Сумського державного університету МОН України "Зв'язок алельного

поліморфізму генів ектопічної кальцифікації з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень" (№ державної реєстрації 0115U000688) та "Значення поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку найпоширеніших патологічних процесів і хвороб людини" (№ державної реєстрації 0114U006297).

Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Сформульовані О.І. Матлай наукові положення, узагальнення та висновки базуються на достатній кількості спостережень (170 хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт та 124 осіб без цереброваскулярної патології, що склали контрольну групу).

Використані методики дослідження є такими, що дозволяють вирішити поставлені завдання на сучасному методичному рівні, що дало можливість авторці отримати вірогідні результати та зробити обґрунтовані висновки. При виконанні дослідження авторкою опрацьовано достатню кількість літературних джерел (247 першоджерел). Висновки логічні, випливають з матеріалів дослідження, чітко сформульовані, конкретні, відповідають поставленим завданням.

Це дає підстави стверджувати про вірогідність отриманих результатів та обґрунтованість наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Достовірність і наукова новизна результатів дослідження. Достовірність наукових положень захищено аналітичними методами параметричної і непараметричної статистики: непарний критерій Стьюдента, однофакторний дисперсійний аналіз, критерій узгодженості Пірсона- χ^2 , метод логістичної регресії для прогнозування ІАТІ, метод мультифакторної просторової редукції MDR (multifactor dimensionality reduction) для виявлення та характеристики міжгенних стосунків, у т.ч. кластерний аналіз результатів моделювання міжлокусної взаємодії, тощо. Результати виконаного статистичного аналізу подаються в 42 таблицях, 10 рисунках і 36 окремих додатках із зазначенням рівня значимості для кожного дослідженого показника.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в тому, що автор вперше проаналізувала вплив поліморфних варіантів гена MTHFR на розвиток

ішемічного інсульту в пацієнтів із різними факторами ризику. Вперше встановлено, що в осіб чоловічої статі, гомозиготних за мінорним С-алелем (A1298C поліморфізм) є високий ризик розвитку інсульту. Вперше показано, що окремі гаплотипи аналізованих генів призводять до значного збільшення ризику інсульту. Автор ретельно проаналізувала додаткові чинники ризику через призму аналізованих генів у формуванні різних видів інсультів: чоловіча стать (чоловіки з СТ-генотипом С677Т поліморфізму гена МТНFR у 2,3 раза стійкіші до розвитку ІАТІ, а наявність СС-генотипу А1298С поліморфізму підвищує ризик інсульту у 3,5 рази), індекс маси тіла (ІМТ) більше 25 кг/м², високий артеріальний тиск (АТ), басейни мозкових артерій, вид інфаркту мозку, ступені тяжкості, черговість виникнення, тощо. Новим є те, що ризик розвитку інсульту вірогідно більший у групі осіб-некурців із ТТ-генотипом (С677Т поліморфізм гена МТНFR), що створює передумови для продовження наукової дискусії.

Практичне значення одержаних результатів та висновків. Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням, що відповідає паспорту спеціальності "патологічна фізіологія" (п. 2.6 – дослідження в галузі клінічної патофізіології). Результати та висновки дослідження розширюють відомості про роль генетичних факторів у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту та створюють передумови для корекції заходів профілактичного та лікувального характеру у цільовій категорії осіб..

Практична цінність роботи полягає в тому, що дані щодо асоціації С677Т і А1298С поліморфізмів гена МТНFR із розвитком ІАТІ можуть бути використані для прогнозування інсульту у популяції із факторами ризику атеросклерозу з метою первинної, чи вторинної профілактики.

Матеріали дослідження впроваджені у науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) МОЗ України, на кафедрі фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету МОН України.

Повнота викладення результатів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, серед яких 7 статей (у тому числі 4 одноосібно, одна – у виданні з індексом цитованості в наукометричній базі Scopus, решта – у наукових фахових виданнях, що входять до затвердженого переліку ДАК України) і 7 тез доповідей.

Сукупність усіх публікацій у повній мірі відображає викладені в дисертації результати дослідження.

Зміст автореферату є ідентичним основним положенням дисертації.

Відповідність вимогам змісту та оформлення роботи. Дисертація побудована за загальноприйнятою схемою. Загальний обсяг роботи 167 сторінок комп'ютерного машинопису. Складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів роботи, висновків, списку літератури (247 джерел, з яких 160 – латиницею) та додатків. Мова дисертації – українська.

У "Вступі" послідовно і логічно аргументується актуальність вибраної теми, наводиться зв'язок дисертаційної роботи з науковою тематикою навчального закладу, чітко і конкретно сформульовано мету і завдання дослідження, об'єкт, предмет і методи дослідження, показано новизну та практичну значимість результатів, визначається особистий внесок автора у виконання дисертації, наводяться відомості про апробацію результатів, а також пункт "Обсяг і структура дисертації", що не передбачений вимогами до змісту дисертацій.

Огляд літератури займає 20 сторінок, складається з двох підрозділів, стисло висвітлює сучасні уявлення про патогенез ішемічного інсульту, а також роль поліморфізмів гена MTHFR у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту. Перший підрозділ надмірно деталізує загальновідомі поняття та факти. Другий підрозділ написано чітко і логічно, а відбір літературних джерел та їх аналіз свідчить про широку ерудицію та наукову зрілість дисертанта.

У 2-му розділі "Матеріали і методи" наводиться характеристика клінічного матеріалу, вказано, що дослідження проводилося з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину, отримано інформовану згоду від кожного пацієнта на участь у дослідженні, дано перелік нозологій та станів, що слугували критеріями не включення у дослідження. Із розділу стає зрозумілим, що дослідження були одномоментні, на кшталт "case-control", без тривалого періоду спостереження. Авторкою описано методи дослідження. Окремий підрозділ присвячено дослідженню поліморфізму генів, де автор вичерпно і розширено описує методику генотипування поліморфних варіантів гена MTHFR, наводить електрофореграми із їх детальним описом. На доріжках електрофореграми (рис. 2.3.2) відсутні рестрикційні фрагменти розміром 29 пн, про які заявляється абзацом вище, що можливо є результатом технічного обрізання/корекції рисунку. Наприкінці розділу дисертантка дає стислий опис методів статистичного аналізу, котрі було використано в дослідженні. Водночас, відсутній опис методик визначення "зв'язків" – кореляцій (r) параметричних / непараметричних (параметричний – Пірсона (за умови нормального розподілу), чи рангової (непараметричної) кореляції за Спірменом, Кендалом (τ), γ -коефіцієнтом, чи множинний кореляційний аналіз, тощо.

Розділ 3 "Результати власних досліджень" складається з чотирьох підрозділів, кожний з яких є завершеною самостійною структурною одиницею. У першому і другому підрозділах автор досліджує асоціацію C677T і A1298C поліморфізмів гена MTHFR із розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Наводиться частота зустрічання в популяції мешканців Сумської області (із/без інсульту) алелів та генотипів двох ізоформ (C677T і A1298C поліморфізмів) гена метилентетрагідрофолатредуктази, як загалом, так із урахуванням статі, зросту, маси тіла та ІМТ, рівня АТ (систоличного, діастолічного, пульсового та середнього) у т.ч. з урахуванням гендерних особливостей, впливом куріння, вмістом глюкози плазми та ожиріння.

Третій підрозділ присвячено комплексному впливу вище вказаних ізоформ гена MTHFR на розвиток ІАТІ із застосуванням сучасної класифікаційної двокомпонентної моделі для прогнозу ризику розвитку хвороби у загальній популяції, а також можливістю діагностувати недугу в необстежених пацієнтів (із вказанням даних навчальної здатності (Training Balanced Accuracy), тестованої у вибірці (Testing Balanced Accuracy) та крос-перевірної здатності моделі (Crossvalidation Consistency). Для оцінювання комплексного впливу вивчених локусів гена MTHFR на розвиток ІАТІ та моделювання їх взаємодії автор використала метод мультифакторної просторової редукції.

У четвертому підрозділі описано вплив обох поліморфних варіантів гена MTHFR на основні характеристики гострої атеротромботичної ішемії мозку з урахуванням ділянок ураження артеріального басейну головного мозку (передня, середні, задня мозкові артерії, вертебральні та базилярна артерії, чи поєднані варіанти), обсягом ураження (тотальний, кінцевий, лакунарний), ступеня тяжкості недуги, черговістю виникнення (вперше, повторно), маси тіла, рівня АТ, статусу курця, гендерних особливостей

"Аналіз і узагальнення результатів" містить стислий виклад основних положень дисертації, порівняння власного фактичного матеріалу з даними літератури. На підставі аналізу літератури авторка пропонує можливі механізми розвитку ендотеліальної дисфункції, через накопичення гомоцистеїну, вплив на процеси обміну ліпідів, гемореологію, зміни функціональної активності тромбоцитів, оксидативний стрес, запалення на розвиток атеротромботичного інсульту головного мозку, також авторка наводить місце впливу досліджених генів у даному патологічному процесі.

Висновки досить конкретні, відповідають завданням дослідження, впливають із результатів дослідження, обґрунтовані і достовірні, відрізняються новизною, хоча і потребують певної стилістичної корекції.

Наведений список літератури (29 сторінок), складений згідно діючих вимог ДСТУ 7093:2009, ДСТУ 3582:2013.

Під час аналізу змісту роботи та вивчення матеріалів дисертації у порядку наукової дискусії виникли наступні **зауваження**:

- наявні помилки технічного характеру, відсутні розділові знаки, в окремих місцях є неточності в наведенні числових даних;

- окремі речення є стилістично незавершеними, повторно наводяться окремі числові дані, місцями є описки в генотипах, алелях, зустрічаються неточності формулювання, двозначні вислови;

- нумерація таблиць повинна наводитись відповідно до номеру розділу наскрізно, а не кожного підрозділу окремо, в окремих таблицях форматування не відповідає вимогам. В примітках до окремих таблиць подається посилання на примітки до інших таблиць, що утруднює сприйняття матеріалу;

- пояснення до окремих рисунків не відповідає змісту.

Слід підкреслити, що наведені зауваження не носять принципового характеру, не впливають на загальну позитивну оцінку дисертації, можуть бути легко виправлені і не знижують наукової цінності роботи. Основні наукові положення та висновки автора не підлягають сумніву.

У процесі рецензування виникли окремі **питання**, на які хотілося б почути відповідь дисертанта у порядку наукової дискусії:

1. У Ваших дослідженнях у чоловіків-носіїв ТТ-генотипу (С677Т поліморфізм) та СС-генотипу (А1298С поліморфізм) гена метилентетрагідрофолатредуктази ризик розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту вищий, ніж у носіїв основного алеля. Однак відомо, за даними низки досліджень, що в більшості популяцій трапляється навпаки – частіше розвивається інсульт у жінок із мінорним алелем, що асоціює з вищим рівнем гомоцистеїну плазми. Чим Ви можете пояснити отримані Вами результати?

2. На Вашу думку, чи достатньо вивчених Вами генетичних середників для пояснення зв'язку між зниженням активності фермента метилентетрагідрофолатредуктази і накопиченням гомоцистеїну в плазмі?

3. Яким чином впливають пермутаційні тести на результати кластерного аналізу моделювання міжгенної взаємодії методом MDR, зокрема у

хворих на ішемічний інсульт? Що підвищує класифікаційну здатність створеної двокомпонентної моделі?

На додаток слід відмітити використання дисертантом сучасних підходів до статистичного аналізу зі створенням так званих класифікаційних моделей прогнозу ризику хвороби у популяції, що стало додатковою окрасою роботи і підкреслює наукову ерудицію дисертанта.

Висновок на відповідність дисертації вимогам, які висуваються до наукового ступеня кандидата медичних наук. Дисертаційна робота Матлай Ольги Іванівни "Зв'язок алельного поліморфізму гена метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з розвитком ішемічних інсультів" є завершеною самостійною кваліфікаційною науковою працею, у якій містяться нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень, що розв'язують конкретне наукове завдання в галузі медичної галузі науки – патологічної фізіології: встановлення ролі двох ізоформ гена метилентетрагідрофолатредуктази (С677Т та А1298С) у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту.

Таким чином, за актуальністю, обсягом та методичним рівнем проведених досліджень, науковим та практичним значенням дисертація О.І. Матлай відповідає вимогам п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

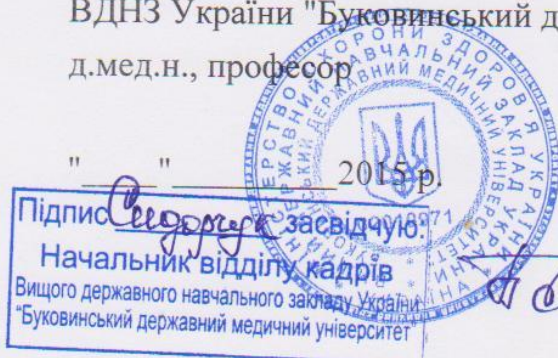
Офіційний опонент:

завідувач кафедри сімейної медицини

ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"

д.мед.н., професор

Л.П. Сидорчук



Л.П. Сидорчук