

## **ВІДЗИВ**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Дубовик Євген Іванович  
«Патогенетичне значення поліморфізму генів циклу вітаміну К для  
розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту», що представлена до  
захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за  
спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія**

Актуальність теми дисертаційної роботи Євгена Івановича очевидна – ішемічні інсульти є надзвичайно важливою медико-соціальною проблемою, а молекулярно-генетичні механізми цих захворювань активно вивчаються в усьому світі. Звісно, велику увагу привертають і варіації генів, що збільшують ризик виникнення інсультів, впливають на перебіг захворювання і можуть визначати ефективність терапії. Крім того, визначення асоціації певних поліморфізмів із ішемічним інсультом може допомогти зрозуміти нові патогенетичні механізми розвитку цієї патології із подальшою розробкою нових методів лікування та профілактики. Робота Євгена Івановича повністю відповідає означеним тезам і привертає увагу вчених до відносно маловивченого питання про роль  $\gamma$ -карбоксілювання у функціонуванні факторів зсідання при атеросклеротичному процесі, що, звісно, є патоморфологічним підґрунтя розвитку ішемічного інсульту. Головна гіпотеза, що тестується у дисертаційному дослідженні полягає в наступному: чи дійсно дефекти функціонування ферментів  $\gamma$ -карбоксілювання можуть стати відправною точкою у спотвореній реалізації молекулярного каскаду активації вітамін-К-залежних білків та причиною тромбозів і кальцифікації судин?

**Наукова новизна отриманих результатів.** Встановлено зв'язок між поліморфними локусами гена *VKORC1* і *GGCX* та ішемічним інсультом. Показано, що у носіїв мінорного А-алеля (поліморфізм G-1639A) ризик розвитку інфаркту головного мозку у 2,1 раза вищий, ніж у гомозигот за основним G-алелем, а у гомозигот Т/Т (поліморфізм Arg406Arg) ймовірність настання ІАТІ в 3,1 раза вища, ніж у носіїв основного С-алеля. З'ясовано, що поліморфні локуси генів *VKORC1* та *GGCX* впливають на розвиток ішемічного інсульту в залежності від статі, індексу маси тіла пацієнта, а також наявності артеріальна гіпертензія та звичка паління. Показано, що гаплотипи -1639G/1173T та -1639A/1173C за G-1639A- і C1173T- поліморфізмами гена *VKORC1* підвищують ймовірність розвитку ішемічного інсульту, а гаплотип -1639G/1173C має протективне значення.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Отримані наукові положення і висновки обґрунтовані достатнім обсягом молекулярно-генетичних досліджень. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

**Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів.** Робота виконана на сучасному методичному рівні: дослідження проводили проведено на 170 хворих та 124 практично здорових особах, в яких після проведення клінічних досліджень, були виділена ДНК та проведено генотипування за 3 локусами із застосування полімеразної ланцюгової реакції із наступним рестрикційним аналізом. Достатній об'єм проаналізованого матеріалу та ретельний статистичний аналіз дозволили

вирішити поставлені задачі, зробити логічні висновки, що витікають із проведеного дослідження.

**Практичне значення** одержаних результатів полягає в тому, що встановлений зв'язок генетичних варіантів з ішемічним інсультом може бути використаний в якості генетичного маркера для оцінювання індивідуального ризику розвитку цього захворювання в осіб із різними факторами ризику атеросклерозу, а в перспективі проводити індивідуалізоване лікування.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідної теми «Зв'язок алельного поліморфізму «генів ектопічної кальцифікації» з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень» (номер державної реєстрації 0115U000688).

**Загальна характеристика роботи.** Дисертаційна робота викладена на 167 сторінках друкованого тексту та складається із “Вступу”, “Огляду літератури” (3 підрозділи), експериментальної частини, до якої входять розділи „Матеріали та методи досліджень” (3 підрозділи), „Результати досліджень” (4 розділи), „Обговорення результатів”, “Заключення” та “Висновки”. Робота ілюстрована 25 рисунками та містить 63 таблиці. Закінчується списком використаних літературних джерел, що включає 260 посилань.

Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальною інформацією про асоціації поліморфізмів багатьох генів, задіяних у патогенез атеросклерозу, з

ішемічним атеротромботичним інсультом, структуру та функцію білків циклу вітаміну К та поліморфізм генів, що кодують білки вказаного циклу.

У розділі «Матеріали та методи» описано методи виділення ДНК, полімеразної ланцюгової реакції, рестрикційного аналізу та електрофорезу нуклеїнових кислот. Особливого значення набуває в роботі статистичний аналіз результатів, в який включено, зокрема, розрахунок частоти гаплотипів та аналіз нерівноважного зчеплення (linkage disequilibrium) та моделювання міжлокусних взаємодій за допомогою методу зменшення багатofакторної розмірності (MDR).

У розділі „Результати досліджень” наведено результати генетичного дослідження та аналізу клінічних даних з огляду індивідуального генотипу кожного хворого.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» дозволяє автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та зробити логічні висновки, що безпосередньо впливають із результатів роботи.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та у авторефераті.** Наукові положення дисертаційної роботи зроблені ним висновки та рекомендації, що чітко сформульовані в дисертації, досить повно відображені в опублікованих 14 наукових працях, із яких 6 статей, що опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та 8 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових з’їздів та конференцій. Основні положення дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

## ЗАУВАЖЕННЯ.

1. Задача 4 дисертаційного дослідження сформульована наступним чином: «проаналізувати вплив однонуклеотидного поліморфізму Arg406Arg гена *GGCX* на патогенез ІАТІ». Незрозуміло, яким чином визначення поліморфізму у хворого, дозволяє проаналізувати механізми виникнення та розвитку захворювання? Звідки автор дослідження дізнався, що певний поліморфізм сприяв виникненню інсульту, а не є просто асоційованим із цією патологією?

2. В роботі є дані про стан системи згортання крові та фібринолізу (4 показники), проте жодного зв'язку із поліморфізмами, що вивчалися, показати не вдалося, хоча очікувати від варіацій генів та білків системи  $\gamma$ -карбоксилювання потрібно було б саме в цьому аспекті. Чим автор дослідження може пояснити таку «невдачу»? Яким чином тоді пояснювати внесок цих поліморфізмів у патогенез ішемічного інсульту, якщо змін у зсіданні крові немає? Лишається лише кальцифікація, про яку в роботі, на жаль, інформації немає, хоча у методах клінічного дослідження зазначено МРТ-дослідження головного мозку, під час якого можливо встановити осередки кальцифікації судин.

3. Дефектом роботи є відсутність дослідження функціонального значення обраних поліморфізмів, не визначалася активність експресії відповідних генів в залежності від генотипу та активність відповідних білків.

4. Назва багатьох таблиць «Клінічна характеристика хворих з ІАТІ залежно від варіантів генотипу...» не є коректною, бо йдеться лише про результати біохімічних тестів, а не про повну клінічну характеристику.

### ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Дубовик Євген Іванович «Патогенетичне значення поліморфізму генів циклу вітаміну к для розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту», подана до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті, за своєю актуальністю, науковим і практичним значенням, глибиною і обсягом досліджень, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам ДАК України про присудження наукових ступенів стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її виконавець – Дубовик Євген Іванович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія,

Завідувач відділу загальної та молекулярної  
патофізіології Інституту фізіології  
ім. О.О.Богомольця НАН України,  
доктор медичних наук, професор



В.Є.Досенко

