

## ВІДГУК

офиційного опонента кандидата медичних наук,  
доцента **Малачкової Наталії Валентинівни**  
на дисертаційну роботу Бурдея Артема Вячеславовича  
**«Діагностична значимість делеційного поліморфізму генів**  
**глутатіон-S-трансферази (GSTM1 і GSTT1)**  
у розвитку та прогресуванні первинної відкритокутової глаукоми»,  
представлену в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 26.613.007  
при Національній медичній академії післядипломної освіти  
імені П. Л. Шупика МОЗ України,  
що утворена наказом МОН України №1502 від 04.12.2020 р.,  
на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина

### **1. Актуальність обраної теми дисертації.**

Відомо, що первинна відкритокутова глаукома (ПВКГ) є однією з головних причин слабкозорості та сліпоти серед дорослого населення у всьому світі. За оцінками світових дослідже́нь число людей у віці 40-80 років з ПВКГ у всьому світі на сьогодні складає 52,68 млн. і, за прогнозами, в 2040 року збільшиться до 79,76 млн. Результати вітчизняних вчених свідчать про значне збільшення поширеності ПВКГ на Україні. Загальновідомо, що ПВКГ є складним багатофакторним захворюванням і виникає в результаті сукупної взаємодії факторів ризику та генетичних поліморфізмів. Доведено, що дана патологія має спадкову склонність, а вплив генетичних факторів коливається від 20% до 60%.

Дослідження останніх років свідчать, що інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів та окисний стрес є невід'ємним компонентом нейродегенерації та апоптозу гангліозних клітин сітківки. З іншої сторони ціла низка факторів відіграють важливу роль в системі антиоксидантного захисту, в процесах детоксикації та ліквідації ксенобіотиків, в тому числі канцерогенів, окислювачів, токсинів та лікарських засобів. Тривалі делеції в генах GSTT1 і GSTM1 призводять до синтезу білкових продуктів із зменшеною кількістю амінокислотних залишків, такі білки характеризуються зниженою ферментативною активністю. Делеційні поліморфізми генів GSTT1 і GSTM1, а також поліморфізм Ile105Val гену GSTP1, характеризуються відсутністю активності білкового продукту, що збільшує ризик розвитку різних системних захворювань, в тому числі і офтальмологічних, таких як глаукома і катаракта.

На сьогодні в Україні досі не було проведено жодного дослідження щодо визначення діагностичної та прогностичної ролі поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази у розвитку та прогресуванні ПВКГ, що обумовило вибір представленої

теми і мети дослідження – підвищення ефективності діагностики та прогнозування розвитку та прогресування ПВКГ шляхом визначення діагностичної значимості делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*) у хворих з української популяції для вирішення актуального науково-прикладного завдання сучасної офтальмології.

## **2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.**

Дисертаційна робота виконана на кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика і є фрагментом планової науково-дослідної роботи «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органу зору» (№ держ. реєстрації 0116U002821) – термін виконання 2016-2020 рр., в якій автор був співвиконавцем і виконував фрагменти дослідження.

## **3. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.**

Доповнені знання про клінічний перебіг ПВКГ: встановлено, що зростання тривалості захворювання відповідно до стадій ПВКГ склало від 0 до чотирьох років ( $H=10869$ ;  $p=0,00E-01$ ). Запропоновані показники швидкості розвитку ( $ШР_{ПВКГ}$ ) за стадіями (стадія/рік життя) та швидкості прогресування ( $ШП_{ПВКГ}$ ) (стадія/рік хвороби) прогресивно збільшувалися за стадіями глаукоми ( $p<0,05$ ).  $ШП_{ПВКГ}$  мав значущий вплив на стадію ПВКГ ( $F=21,1$ ;  $p=2,16E-11$ ).

Вперше в українській популяції виявлено асоціацію мутантного гомозиготного генотипу Val/Val поліморфізму Ile105Val гена *GSTP1* з розвитком ПВКГ як за загальною ( $p=0,03$ ), так і за рецисивною ( $p=0,01$ ) моделями, що при стратифікації за стадією глаукоми зберігалося для III та IV стадій. Мутантна алель Val мала асоціацію з розвитком ПВКГ ( $p=0,01$ ), що при стратифікації за стадією глаукоми зберігалося для II та III стадій. Характер асоціації мав гендерні розбіжності: у жінок-носійок алелі Val шанси розвитку ПВКГ були збільшені у 1,65 рази при порівнянні з жінками контрольної групи ( $p=0,04$ ).

Вперше у хворих з української популяції встановлено асоціацію «нульової» алелі гена *GSTT1-null* з ПВКГ ( $p=0,03$ ), для «нульової» алелі гена *GSTM1-null* така асоціація не встановлена. Обидві «нульові» алелі (*GSTM1-null* або *GSTT1-null*) збільшували ризик розвитку IV стадії ПВКГ ( $p<0,05$ ). Закономірністю розвитку ПВКГ

було збільшення частоти подвійного «нульового» генотипу (*GSTM1-null\*GSTT1-null*), особливо, у хворих з III та IV стадіями ( $p<0,05$ ). Подвійний «нульовий» генотип (*GSTM1-null\*GSTT1-null*) збільшував ризик розвитку ПВКГ у сім разів ( $p=0,0E-01$ ).

Вперше у хворих з української популяції виявлені вірогідні відмінності частот комбінацій генотипів *GSTP1*, *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на ПВКГ у порівнянні з контролем ( $p=0,00E-01$ ). Генотип *GSTP1(Val/Val)\*GSTM1-null\*GSTT1+* збільшував ризик розвитку I стадії у 15 разів. Генотип *GSTP1/Ile/Ile\*GSTM1-null\*GSTT1-null* збільшував ризик розвитку II стадії у 5,1 рази, III стадії – у 6,6 рази та IV стадії – у 13 разів. Розподіл сполучень всіх трьох генотипів мав достеменний вплив на тривалість захворювання, стадію, ранг та величину ВОТ (для всіх показників  $p<0,05$ ).

Вперше показано, що найбільше значення у прогнозуванні швидкості розвитку та прогресування ПВКГ мали: «*GSTT1*» > «*GSTP1*» > «*GSTM1*». Обґрунтована необхідність визначення генотипів ризику на етапі, коли у пацієнта відсутні початкові ознаки захворювання (при проведенні профілактичних оглядів, виявленні спадкової скильності тощо).

#### **4. Теоретичне значення результатів дослідження.**

В результаті проведених автором досліджень були доповнені дані про розподіл поліморфізмів *Ile105Val* гена *GSTP1*, генів *GSTT1* і *GSTM1* у хворих на ПВКГ та здорових осіб і їх зв'язок з ризиком розвитку та прогресування ПВКГ.

#### **5. Практичне значення результатів дослідження.**

Використання молекулярно-генетичного аналізу з метою визначення поліморфізмів *Ile105Val* гена *GSTP1*, делеційних поліморфізмів генів *GSTM1* і *GSTT1* в поєднанні з існуючими алгоритмами функціональної діагностики первинної відкритокутової глаукоми дозволить значно підвищити ефективність ранньої діагностики та прогнозування перебігу захворювання.

Результати аналізу прогностичного значення досліджених алельних варіантів та їх сполучень щодо ризику розвитку та перебігу ПВКГ можуть бути використані при формуванні груп підвищеного ризику з метою прийняття своєчасних профілактичних заходів, спрямованих на зниження частоти ПВКГ.

#### **6. Ступінь обґрунтування та вірогідності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Дисертаційна робота Бурдей Артема Вячеславовича виконана на сучасному

науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини та відповідає сучасним вимогам проведення молекулярно-генетичних та клінічних досліджень. Фактичний матеріал дисертації відповідає встановленим нормам за якістю та кількісними показниками.

Клінічна частина роботи базується на дослідженні 270 пацієнтів, які були розподілені на дві групи. Основну групу склали 172 пацієнти з підтвердженим діагнозом ПВКГ I-IV стадій і різним рівнем ВОТ. Контрольну групу склали 98 особи без глаукоми. Генотипування було проведено всім особам з основної і контрольної груп.

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етнічні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини та законодавства України.

Статистична обробка отриманих результатів проведена на сучасному рівні, включає аналіз отриманого матеріалу за допомогою широкого спектру різноманітних статистичних методів. Статистичний аналіз повністю підтверджує вірогідність отриманих результатів. Виконаний обсяг досліджень, їх характер, обробка матеріалу дозволяють вважати результати і висновки, отримані дисертантом, вірогідними. Рисунки та таблиці, які наведені в роботі переконливі. Наукові положення, висновки і практичні рекомендації, сформульовані у дисертації, адекватні поставленим завданням, логічно пов'язані з одержаними результатами дослідження і дозволяють вважати їх повністю обґрунтованими.

## **7. Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому, зауваження щодо оформлення.**

Дисертація викладена на 158 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, 8 розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та 2 додатків. Дисертація ілюстрована 61 таблицею та 30 рисунками, з яких чотири таблиці та один рисунок займають окремі сторінки (всього 5 сторінок). Список використаних джерел включає в себе 288 вітчизняних і закордонних праць.

Робота написана у науковому стилі, грамотною літературною мовою. Всі розділи дисертації написано чітко із дотриманням структури роботи відповідно до дизайну дослідження.

«Вступ» дисертації відповідає загальноприйнятій схемі написання. В ньому в

повній мірі викладена актуальність теми дисертації та обґрунтований її вибір, стисло викладена актуальність теми дисертації, сформульовані мета і завдання дослідження та методи їх досягнення, описана наукова і практична новизна дослідження, вказані місця\* апробації роботи та особиста участь дисертанта у виконанні і написанні роботи, відображені загальна характеристика роботи. Зауважень до розділу немає.

Перший розділ роботи являє собою огляд літератури. Ця частина дисертації побудована на узагальнені відомих на даний час наукових джерел з досліджуваної проблематики. Автором проаналізовані відомі сучасні погляди на етіологію та патогенез ПВКГ. Значна частина розділу присвячена аналізу відомих і актуальніших на даний час генетичних аспектів розвитку глаукоми та механізмів впливу на них. Використаний в розділі перелік літературних джерел свідчить про його сучасність та зазначає освіченість і ерудованість дисертанта. Зауважень до розділу немає.

В другому розділі викладено дизайн дослідження, матеріал і методи загальноклінічних, офтальмологічних, молекулярно-генетичних і статистичних досліджень. Загалом використані методики цілком адекватні для вирішення поставленої мети та конкретних завдань роботи. Зауважень до розділу немає.

В третьому розділі представлена клінічна характеристика пацієнтів, залучених у дослідження. Описаний протокол обстеження хворих з ПВКГ, а також розподіл хворих за стадіями ПВКГ і рангом ВОТ. Для узагальнення даних по швидкості розвитку патологічного процесу пацієнти були ранжировані по двом показникам: швидкості розвитку патологічного процесу за стадіями (стадія/рік життя) та швидкістю прогресування за стадіями (стадія/рік хвороби). Розрахунок показників у групах хворих (по стадіях ПВКГ) показав їх прогресивне збільшення з підвищеннем стадії патологічного процесу. Це дозволило вважати використання цих показників обґрунтованим та доцільним для подальшого аналізу ролі генетичних чинників у розвитку ПВКГ. Розділ добре ілюстровано діаграмами та таблицями, що спрощують сприйняття цифрового матеріалу та наглядно показують їх різницю. Наприкінці розділу наведено резюме та перелік публікацій автора, які відображають його вміст. Зауважень до розділу немає.

В четвертому розділі наводяться дані щодо розподілу генотипів та зв'язку поліморфізмів гену *GSTP1* Ile105Val з розвитком ПВКГ. Встановлено, що частоти поліморфізму Ile105Val гена *GSTP1* у пацієнтів з ПВКГ варіюють в залежності від стадії. Виявлено асоціацію мутантного гомозиготного генотипу Val/Val поліморфізму Ile105Val гена *GSTP1* з розвитком ПВКГ як за загальною ( $\chi^2=7,16$ ;  $p_{(x^2)}=0,03$ ; ВШ=2,71, BI=1,17-2,54), так і за рецисивною ( $\chi^2=6,71$ ;  $p_{(x^2)}=0,01$ ; ВШ=2,71; 95% BI 1,25-5,89)

моделями, що при стратифікації за стадією глаукоми зберігалося для 3-ї та 4-й стадій. Встановлено асоціацію мутантної алелі Val гена *GSTP1* з розвитком ПВКГ. Розділ достатньо ілюстрований таблицями та діаграмами, наприкінці містить резюме та перелік публікацій автора, які відображають його вміст. Зауважень до розділу немає.

В п'ятому розділі наводяться дані щодо розподілу генотипів та зв'язку делеційних поліморфізмів генів *GSTM1* та *GSTT1* з розвитком та клінічними проявами ПВКГ. Встановлено асоціацію «нульової» алелі гена *GSTT1-null* з ПВКГ ( $p_{(X^2)}=0,03$ ). В розділі текстовий матеріал добре розмежовується таблицями та наглядними діаграмами. Зауважень до розділу немає.

Шостий розділ присвячений дослідженню розподілу поліморфних генотипів генів *GSTP1*, *GSTM1* і *GSTT1* та їх зв'язок з ПВКГ. Виявлені вірогідні відмінності частот комбінацій генотипів генів глутатіон-S-трансферази *GSTP1*, *GSTM1* та *GSTT1* між контрольною групою та всіма групами пацієнтів з ПВКГ ( $\chi^2=54,68$ ,  $p=0,00E-01$ ). Встановлено, що генотипом ризику розвитку I стадії ПВКГ виявився *GSTP1(Val/Val)\*GSTM1-null\*GSTT1+*, наявність якого збільшувала ризик у 15 разів. У носіїв генотипу *lle/lle\*GSTM1-null\*GSTT1-null* ризик розвитку ПВКГ II стадії був у 5,1 рази, III стадії – у 6,6 рази та IV стадії – у 13 разів більшим у порівнянні з контролем. Наявність предкового генотипу *GSTP1(lle/lle)* у сполученні з обома або хоча б з однією повноцінною (не «нульовою») алеллю генів *GSTM1* або *GSTT1* мало протективний ефект у відношенні прогресування ПВКГ. Зауважень до розділу немає.

Сьомий розділ присвячено дослідженю прогнозування розвитку та прогресування ПВКГ. В даному розділі з використанням регресійного аналізу був розроблений алгоритм прогнозування віку початкових клінічних проявів ПВКГ та швидкості розвитку ПВКГ при первинному зверненні пацієнта. Для практичного використання запропоновані моделі прогнозування віку пацієнта (з урахуванням генотипу і статі), в якому слід очікувати розвиток I стадії ПВКГ та швидкості прогресування, якщо глаукома вже є. Матеріал розділу надано чітко та послідовно. Зауважень до розділу немає.

Восьмий розділ присвячено аналізу та узагальненню результатів дослідження. Детально проаналізовано отримані результати дослідження, проведено їх порівняння з результатами відомих сучасних досліджень з теми дисертації. Зауваження по даному розділу відсутні.

Висновки відповідають завданням дослідження та повністю відображають результати проведеної роботи.

Всі публікації за матеріалами роботи відповідають вимогам МОН України.

При ознайомлені з роботою виникло декілька запитань:

1. Чому в своїй роботі Ви обрали для дослідження саме гени глутатіон –S – трансферази?
2. Проведені багаточисленні дослідження щодо вивчення поліморфізму генів у хворих на ПВКГ. Чи вважаєте ви за доцільне проведення комплексного обстеження (тобто визначення різних поліморфізмів) у пацієнтів на ПВКГ з метою підвищення ефективності прогнозування виникнення та прогресії патологічного процесу?
3. На якому етапі Ви пропонуєте проводити пацієнтам генетичні дослідження і з якою метою?

#### **8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

Основні результати дисертації А.В. Бурдея викладені в 8 наукових публікаціях. З них 5 робіт – статті в журналах відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», у тому числі 3 – журналах, що входять до міжнародних науково-метричних баз (SCOPUS), 1 – періодичному науковому виданні держави, яка входить до Європейського Союзу; 2 роботи – тези у матеріалах науково-практичних конференцій.

#### **9. Особистий внесок здобувача в одержання наукових результатів, що виносяться на захист.**

Вибір теми дисертації, спрямованість дослідження належить науковому керівнику, д.мед.н., професору Рикову С.О. У співавторстві з науковим керівником визначена методологічна побудова роботи.

Автором самостійно проведений інформаційний і патентний пошук, аналіз наукової літератури з досліджуваної проблеми. Клінічні спостереження за хворими ПВКГ автором проведено самостійно в ТОВ «Британський офтальмологічний центр» та Київський міський клінічний офтальмологічний лікарні «Центр мікрохірургії ока», яка є клінічною базою кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України.

Молекулярно-генетичні дослідження були проведенні у відділі молекулярно-генетичних досліджень Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ

України (директор – д.мед.н., професор Л. В. Натрус) згідно Договору між Національною медичною академією післядипломної освіти імені П. Л. Шупика та Національним медичним університетом імені О. О. Богомольця при консультативній допомозі д.мед.н., професора С. В. Зябліцева.

Статистична обробка результатів клінічних та генетичних досліджень виконана здобувачем самостійно. Аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання основних наукових положень і висновків дисертації були виконані спільно з науковим керівником доктором медичних наук, професором С. О. Риковим.

У наукових працях, опублікованих за матеріалами дисертації в співавторстві здобувачу належить провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі результатів.

**10. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної добросердності (академічного plagiatу, самоплагiatу, фабрикації, фальсифікації).**

Розглянувши та проаналізувавши матеріали дисертації здобувача наукового ступеня доктора філософії Бурдей Артема Вячеславовича на тему: «Діагностична значимість делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*) у розвитку та прогресуванні первинної відкритокутової глаукоми», не було виявлено ознак академічного plagiatу, самоплагiatу, фабрикації, фальсифікації. Встановлено, що при комп'ютерному тестуванні електронної форми дисертації і наявних за її темою публікацій через програму «Anti-Plagiarism» та за допомогою системи StrikePlagiarism в наданих матеріалах дисертації не виявлено порушень академічної добросердності.

Текст представлених матеріалів дисертації Бурдей Артема Вячеславовича є оригінальним: всі цитати коректно позначені та правильно відображені в списку літератури, всі текстові співпадіння мають відповідні посилання на першоджерело, що міститься в списку використаних джерел; робота не містить ніяких маніпуляцій з алфавітом, зміни букв, прихованого тексту тощо; виявлені у роботі запозичення є сумлінними і не мають ознаки plagiatу. Робота визначається самостійною та може бути допущеною до захисту.

**11. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.**

Наукові та практичні положення дисертації були впроваджені в навчальний процес на кафедрі офтальмології Одеського національного медичного

університету МОЗ України, кафедрі офтальмології Української медичної стоматологічної академії, кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, кафедрі офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедрі офтальмології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедрі офтальмології ФПДО Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

Впровадження в практичну діяльність отриманих результатів здійснювалося в ТОВ «Британський офтальмологічний центр» (м. Київ).

### **12. Відповідність дисертації спеціальності та профілю спецради.**

Дисертація Бурдея Артема Вячеславовича за темою «Діагностична значимість делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*) у розвитку та прогресуванні первинної відкритокутової глаукоми» повністю відповідає паспорту спеціальності 14.01.18 – офтальмологія. Дисертація повністю відповідає профілеві спеціалізованої вченої ради.

### **13. Висновок про відповідність дисертації вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора філософії.**

Дисертаційна робота Бурдей Артема Вячеславовича на тему: «Діагностична значимість делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*) у розвитку та прогресуванні первинної відкритокутової глаукоми» представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина присвячена актуальній проблемі сучасної офтальмології, є закінченою науково-дослідною роботою, яка містить нові положення і нові науково-обґрунтовані результати у галузі офтальмології, що в сукупності розв'язують важливе науково-практичне завдання підвищення ефективності діагностики та прогнозування розвитку первинної відкритокутової глаукоми шляхом визначення діагностичної значимості поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази у хворих з української популяції. Виходячи з актуальності теми, об'єму та рівня досліджень, наукової новизни результатів, теоретичної та практичної цінності отриманих даних, об'єктивності та обґрунтованості висновків, беручи до уваги отримані результати та особистий внесок здобувача, дисертаційна робота Бурдей Артема Вячеславовича «Діагностична значимість делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази (*GSTM1* і *GSTT1*) у розвитку та прогресуванні первинної відкритокутової глаукоми», повністю відповідає вимогам п.10, 11 Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона

здоров'я за спеціальністю 222 Медицина, затвердженого постановою КМУ від 06.03.2019 №167 та Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 №40, а її автор, Бурдей Артем Вячеславович, заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри офтальмології  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України  
к.мед.н., доцент



Н.В. Малачкова

Підпис доцента Н.В. Малачкової засвідчує  
Вчений секретар ВНМУ ім. М.І. Пирогова  
проф.



О.А. Серебренікова