

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу
Захаревич Галини Євгенівни «Оптимізація діагностики розвитку та прогресування мікросудинних порушень при діабетичній ретинопатії за наявності цукрового діабету 2 типу», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», у створену для разового захисту спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.014 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України**

Актуальність обраної теми дисертації. Актуальність проблеми лікування цукрового діабету (ЦД) безперечна і визначається високою медичною і соціальною значущістю захворювання. За наявними розрахунками, число хворих швидко зростає і вже становить у світі близько 450 млн. Особливістю ЦД є рання інвалідизація і висока смертність порівняно з іншими захворюваннями (третє місце після серцево-судинної патології та злоякісних новоутворень). За даними світової статистики, серед усіх хворих на ЦД тільки 3-5% мають діабет типу 1, а решта 97% страждають на ЦД 2 типу (ЦД2Т).

Однією з основних причин слабкозорості, сліпоти та інвалідизації по зору при ЦД2Т є діабетична ретинопатія (ДР), в розвитку якої значне місце займає первинне ураження судин. За даними ВООЗ, серед основних причин слабкозорості і сліпоти ДР становить 1%. Серед основних причин сліпоти в людей віком понад 50 років в усьому світі ДР становить 13%. Висока поширеність ДР, а також дані про багатофакторні механізми її розвитку свідчать про те, що питання етіології та патогенезу залишаються відкритими, а завдання своєчасної діагностики та лікування і профілактики – вельми актуальними.

До факторів ризику прогресування ДР дослідники відносять тривалість ЦД, гіперглікемію, порушення ліпідного обміну, артеріальну гіпертензію, діабетичну нефропатію, метаболічний синдром, вагітність, стать і вік пацієнта, недотримання дієти, низьку фізичну активність та генетичний фактор.

Таким чином, оптимізація діагностики розвитку та прогресування мікросудинних порушень при діабетичній ретинопатії за наявності цукрового

діабету 2 типу у хворих з української популяції на підставі комплексного вивчення клініко-лабораторних даних, даних офтальмологічних досліджень та поліморфізмів гена васкулоендотеліального фактора росту судин (*VEGFA*) є безумовно актуальним завданням сучасної офтальмології, якому і присвячена дана дисертаційна робота.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі офтальмології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Дане дослідження є фрагментом науково-дослідних робіт «Оптимізація лікувально-діагностичних алгоритмів в офтальмології з використанням комп'ютерних технологій» (№ держреєстрації 0113U000204, 2013-2017 рр.) та «Вивчення нових біохімічних, молекулярно-генетичних, біофізичних та клінічних механізмів захворювань ока і розробка нових методів профілактики, лікування і прогнозування очних хворіб» (№ держреєстрації 0118U000103, 2018-2022 рр.), в яких дисертант був співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів дослідження. Набули подальшого уточнення дані про перебіг ДР. Показано, що хворі з проліферативною ДР (ПДР) були молодшими за інших пацієнтів з ДР на 5-9 років, діабет тривав у них найдовше (8-15 років), а його перебіг майже у всіх був некомпенсованим (93,4% хворих). Найнижча гострота зору була відмічена у хворих за наявності ПДР (у контролі медіана максимальної гостроти зору з корекцією (МГЗК) склала 1,0 од., при непроліферативній ДР (НПДР) 0,7 од., а при ПДР – 0,2 од.). Максимальне значення медіани внутрішньоочного тиску (ВОТ) (18 мм рт. ст.) було відмічено при ПДР. Медіани показників оптичної когерентної томографії (ОКТ) при ПДР були збільшені максимальною та приблизно однаковою мірою (центральна товщина сітківки (ЦТС) – у 1,3 рази, центральний об'єм сітківки (ЦОС) – у 1,4 рази; $p < 0,01$). У кожного хворого з ПДР була наявна неоваскуляризація, в окремих випадках з гемофтальмом; у майже половини хворих виявлено

макулярний набряк.

Вперше показано, що рівень *VEGFA* у ВОР перевищував контрольний у 1-й групі у 5,5 разів, у другій – у 6,0 разів і у 3-й – у 9,5 разів ($p < 0,01$ у всіх випадках). Багаторазове (у 5-6 разів) збільшення рівню *VEGFA* у ВОР є ключовим патогенетичним фактором розвитку НПДР, а його подальше збільшення обумовлює розвиток ПДР.

Вперше показана наявність прямого і значущого впливу величини вмісту *VEGFA* у ВОР і тривалість діабету на стадію ДР при первинному огляді ($p = 2,27E-08$ і $p = 6,15E-05$, відповідно), а також – значущий вплив збільшення вмісту *VEGFA* у ВОР на ймовірність розвитку неоваскуляризації тканин ока, а також – гемофтальму і ПДР ($p < 0,05$).

Вперше встановлено, що підвищення ймовірності розвитку неоваскуляризації диску зорового нерву відбувається одночасно з підвищенням вмісту *VEGFA* у ВОР більш 992 пг/мл; неоваскуляризації деінде – більше 923 пг/мл; гемофтальму – більше 1005 пг/мл; ріст фіброваскулярної тканини вздовж задньої гіалоїдної мембрани скловидного тіла – більше 1022 пг/мл; ПДР – більше 926 пг/мл.

Вперше для хворих з української популяції показано, що поліморфізм *rs2010963* гена *VEGFA* мав зв'язок з ДР ($\chi^2 = 6,34$; $p_{(\chi^2)} = 0,04$). Гетерозигота *G/C* збільшувала у 1,6 рази шанси розвитку ДР ($OR = 1,56$; 95% *BI* 0,94-2,57), мінорна гомозигота – у 1,9 рази ($OR = 1,85$; 95% *BI* 0,73-4,73), предкова гомозигота *G/G* зменшувала шанси розвитку ДР у 1,8 рази ($OR = 0,54$; 95% *BI* 0,33-0,89). Стратифікація за стадіями ДР показала, що статистичне значення розподілу генотипів і алелей *rs2010963* мало місце тільки для хворих з ПДР (для генотипів $\chi^2 = 16,55$; $p_{\chi^2} = 2,5E-0,4$; для алелей $\chi^2 = 15,60$; $p_{\chi^2} = 1,0E-04$). Поліморфізм *rs699947* мав зв'язок з ДР ($\chi^2 = 9,53$; $p_{(\chi^2)} = 0,01$); предкова гомозигота *C/C* збільшувала у 2,2 рази шанси розвитку ДР ($OR = 2,21$; 95% *BI* 1,11-4,38), в той час, як гетерозигота та мінорна гомозигота такі шанси зменшували, відповідно, у 1,5 та у 5,6 рази ($OR = 0,65$; 95% *BI* 0,35-1,19 та $OR = 0,18$; 95% *BI* 0,04-0,97). Стратифікація за стадіями ДР встановила, що більша частота предкової гомозиготи *C/C* *rs699947*

мала статистичне значення тільки при ПДР ($p=0,001$). Гомозигота *C/C rs699947* мала асоціацію з ПДР та у 3,8 рази підвищувала ризик її розвитку ($OR=3,75$; 95% ВІ 1,70-8,31) у порівнянні з іншими генотипами.

Визначено, що поліморфізм *rs2010963* впливав на рівень у ВОР *VEGFA* (максимальний рівень мав генотип ризику *C/C*), та мав зв'язок зі статтю (частіше зустрічався у чоловіків, ніж у жінок: 3:1), наявністю ПДР та неоваскуляризацією диску зорового нерву ($p<0,05$). Встановлено, що поліморфізм *rs699947* впливав на МГЗК (мінімальна спостерігалась при генотипі *C/C*), ЦТС (максимальна при генотипі *C/C*), рівень у ВОР *VEGFA* (максимальний рівень – при генотипі *C/C*), а також наявність ПДР та гемофтальму ($p<0,05$).

Вперше показано, що гаплотип *G/C-C/C* у три рази збільшував шанси розвитку ДР при ЦД2Т у порівнянні з контрольною групою. У хворих на ЦД2Т наявність гаплотипу *G/G-C/A* у 2-3 рази зменшувало шанси розвитку ПДР, тоді як наявність гаплотипу *G/C-C/C* такий ризик збільшувало у 4-10 разів; гаплотип *C/C-C/A* виявився маркером ПДР ($p<0,05$). Було відмічено зниження коефіцієнту нерівноважного зчеплення алелей *LD* у хворих на ПДР ($D'=0,42$) у порівнянні з контрольною групою ($D'=0,71$) та іншими хворими з ЦД2Т ($D'=1,00$).

Вперше показано, що показники «Тривалість діабету», «Стать» та «*rs2010963*» мали прямий, а «Вік» і «*rs699947*» – зворотний зв'язок із ймовірністю розвитку як ДР, так і ПДР ($p<0,001$). Для значення $R_{ДР}=0,402$ безпомилкове прогнозування розвитку ДР складало 79,8%. Для значення $R_{ПДР}=0,315$ безпомилкове прогнозування розвитку ПДР складало 78,9%. Показана залежність прогресування ДР від генотипів *rs2010963* і *rs699947*: найшвидший розвиток ДР був притаманний гаплотипам *C/C-C/C* та *G/C-C/C*, а найповільніший – гаплотипам *G/C-A/A* і *G/G-A/A*. Розрахована регресійна модель, яка характеризує залежність швидкості прогресування ДР від поліморфізмів *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA* та має високу прогностичну здатність: $R=0,714$; $R^2=0,514$; $F=93,9$; $p<0,001$.

Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертантом доповнено

наукові дані щодо клініко-лабораторних та офтальмологічних показників у хворих на різні стадії ДР та наявності і можливий вплив вмісту *VEGFA* у внутрішньоочній рідині на розвиток та прогресування ДР. Дисертантом вперше в українській популяції вивчено зв'язок поліморфізмів *rs2010963* та *rs699947* гена *VEGFA* та їх алельних гаплотипів із розвитком ДР.

Завдяки встановленим закономірностям і на заставах доказової медицини автором розроблені математичні моделі ймовірності розвитку та прогресування ДР на основі визначення показників перебігу захворювання та поліморфізмі *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA*.

Практичне значення результатів дослідження. Предковий генотип *G/G rs2010963* є протекторним для розвитку ДР: носії цього генотипу мають у 1,8 рази знижений ризик у порівнянні з пацієнтами без ЦД2Т. Для хворих з ЦД2Т носіїв предкового генотипу *G/G rs2010963* ризик розвитку ПДР знижений у 3,3 рази, тоді як для носіїв гетерозиготи *G/C* та гомозиготи *C/C* – збільшений у 2,5 рази та 1,8 рази, відповідно ($p=5,6E-0,3$). Алель *C rs2010963* у 2,6 рази збільшує ризик розвитку ПДР у порівнянні з контрольною групою (OR=2,61; 95% ВІ 1,61-4,23).

Для хворих з ЦД2Т носіїв предкового генотипу *C/C rs699947* ризик розвитку ПДР збільшений у 3,8 рази (OR=3,75; 95% ВІ 1,70-8,31) у порівнянні з контролем. У хворих з ЦД2Т ризик виникнення ПДР більше за наявності предкової гомозиготи *C/C rs699947* (у 2,8 рази; OR=2,83; 95% ВІ 1,21-6,61). У носіїв гетерозиготи *C/A* у порівнянні з контролем знижений ризик ПДР у 2,5 рази (OR=0,40; 95% ВІ 0,19-0,84), а у хворих на ЦД2Т – у 2,9 рази (OR=0,35; 95% ВІ 0,15-0,83). Наявність мінорного гомозиготного генотипу *A/A* попереджувало розвиток ДР у хворих на ЦД2Т. У хворих з ДР генотип за мажорною алеллю *C/C rs699947* мав асоціацію з ПДР та у 3,8 рази підвищував ризик її розвитку (OR=3,75; 95% ВІ 1,70-8,31) у порівнянні з іншими генотипами.

Носії гаплотипу *G/C-C/C* мають у три рази збільшені шанси розвитку ДР при ЦД2Т у порівнянні з пацієнтами, які ЦД2Т не мали (контрольна група).

У хворих на ЦД2Т наявність гаплотипу *G/G-C/A* у 2-3 рази зменшувало шанси розвитку ПДР, тоді як наявність гаплотипу *G/C-C/C* у 4-10 разів такий ризик збільшувало. Гаплотип *C/C-C/A* є маркером ПДР, оскільки зустрічався тільки за умов наявності цього стану ($p < 0,05$).

Ступінь обґрунтування та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Захаревич Галини Євгенівни виконана на сучасному науково-методичному рівні і відповідає сучасним вимогам до проведення клінічних, імуноферментних та молекулярно-генетичних досліджень. Фактичний матеріал дисертації відповідає встановленим нормам за якісними та кількісними показниками, а саме – дослідження проводилися у 302 пацієнтів. З них у 204 – був виявлений ЦД2Т з різною стадією ДР, які склали дослідну групу; у 98 пацієнтів не було виявлено ЦД2Т та ретинопатії. Цих осіб було включено у контрольну групу.

Статистична обробка отриманих результатів проведена на сучасному рівні, включає аналіз отриманого матеріалу за допомогою різних статистичних методів з використанням параметричних і непараметричних критеріїв; статистичний аналіз повністю підтверджує достовірність отриманих результатів.

Виконаний обсяг досліджень, їх характер, обробка матеріалу дозволяють вважати результати і висновки, отримані дисертантом, вірогідними. Наукові положення і висновки, сформульовані в дисертації, адекватні поставленим завданням, логічно пов'язані з одержаними результатами дослідження і дозволяють вважати їх повністю обґрунтованими.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому, зауваження щодо оформлення. Дисертація викладена українською мовою, побудована за загальноприйнятою схемою і містить: анотації, вступ, 6 розділів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, 2 додатки.

«Вступ» дисертації відповідає загальноприйнятій схемі написання; в ньому в повній мірі викладена актуальність теми дисертації та обґрунтований

її вибір; сформульовані мета і завдання дослідження та методи їх досягнення; описана наукова і практична новизна дослідження; вказані місця апробації результатів роботи та особиста участь дисертанта у виконанні і написанні роботи; відображена загальна характеристика дисертації. Зауважень до розділу немає.

Перший розділ роботи – огляд літератури. Розділ побудовано на аналізі та узагальненні відомих на даний час нових наукових джерел з досліджуваної проблематики. Автором розглянуті питання поширеності ЦД та ДР, сучасний погляд на патогенез ДР. Значна частина розділу присвячена новому маловивченому аспекту патогенезу ДР – васкулоендотеліальному фактору росту судин (VEGFA) та поліморфізмів його гена. Також у розділі наведені сучасні методи боротьби як і з ЦД, так і з його ускладненнями, в тому числі і з ДР. Розділ дає загальне уявлення про стан проблеми та можливі шляхи її поліпшення. Використаний в розділі перелік літературних джерел свідчить про його сучасність та зазначає освіченість і ерудованість дисертанта. Зауваження по даному розділу відсутні.

Другий розділ дисертації описує дизайн, матеріал і методи дослідження. Викладений матеріал написано чітко і лаконічно, але із відображенням повної картини умов клінічних, імуноферментних та молекулярно-генетичних досліджень. Всі використані в роботі методики представлені детально і повністю. В підрозділі «Методи статистичних досліджень» представлені методи статобробки даних, показана ґрунтовність їх використання. Всі методи статистичної обробки відповідають стандартам сучасної доказової медицини. Зауважень до розділу немає.

Третій розділ дисертації присвячено клінічним та імуноферментним дослідженням, метою яких було встановлення частоти і характеру розвитку та прогресування ДР при ЦД2, стану показників рівня *VEGFA* у внутрішньоочній рідині та його співставлення із клінічною картиною перебігу захворювання.

У досліджуваній автором когорті пацієнтів було встановлено підвищення рівня *VEGFA* у ВОР від 5,5 до 9,5 разів, що було розцінено і як передуючий

патогенетичний фактор розвитку ДР і як чинник прогресування ДР до більш тяжких форм, що підтверджувалося співставленням із клініко-лабораторними показниками. Регресійний аналіз показав наявність прямого і значущого впливу величини вмісту VEGFA у ВОР на стадію ДР і тривалість діабету при первинному огляді, а виявлені рівні – на ймовірність розвитку неоваскуляризації ДЗН, деінде росту фіброваскулярної тканини вздовж задньої гіалоїдної мембрани скловидного тіла, а також – гемофтальму і ПДР. Цифровий матеріал для наглядності представлений як у табличному, так і у графічному варіанті у вигляді діаграм. Зауважень до розділу немає.

Четвертий розділ дисертації присвячено молекулярно-генетичним дослідженням, а саме вивченню розподілу генотипів та алелей поліморфізмів *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA* та встановлення їх зв'язку із розвитком діабетичної ретинопатії. За результатами дослідження автором доведена статистично значуща тенденція розподілу генотипів і алелей поліморфізму *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA* для хворих з ПДР з боку підвищення та зниження шансів розвитку і прогресування захворювання в залежності від розподілу набору гетерозигот та алельних гаплотипів. Показана залежність прогресування ДР від генотипів *rs2010963* і *rs699947*: найшвидший розвиток ДР був притаманний гаплотипам *C/C-C/C* та *G/C-C/C*, а найповільніший – гаплотипам *G/C-A/A* і *G/G-A/A*. Розділ написано дуже детально, варіює науковим описом багатьох подробиць, великою кількістю таблиць та графіків. Зауважень до розділу немає.

П'ятий розділ дисертації присвячено визначенню можливості прогнозування розвитку ДР від стану поліморфізмів *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA* та побудові на цих заставах моделі прогнозування виникнення та розвитку захворювання. Розраховані β -коефіцієнти математичної моделі розрахунку ймовірності розвитку ДР дозволили безпомилково прогнозувати розвиток ДР у 79,8% випадків. В розділі текстовий матеріал добре розмежовується таблицями та наглядними діаграмами. Зауважень до розділу немає.

У шостому розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автором було проведено порівняльний аналіз одержаних результатів з даними сучасної літератури із досліджуваної проблематики. На підставі цього аналізу автором обґрунтована доцільність дослідження поліморфізмів *rs2010963* і *rs699947* гена *VEGFA* у хворих із ЦД2Т та ДР, як додаткових факторів визначення ступеня виникнення та прогресування розвитку ДР. Дисертантом вказані можливі подальші кроки і шляхи розвитку запропонованого дослідження. Зауваження по даному розділу відсутні.

Висновки повністю відповідають меті та завданням дослідження, повністю відображають результати проведеної роботи.

Оформлення дисертації відповідає вимогам наказу № 40 МОН України від 12.01.2017 року.

Під час вивчення дисертаційної роботи текстових запозичень, збігів, ідентичності чи схожості викладених даних без відповідних посилань не було. Робота не містить ознак академічного плагіату та відповідає принципам наукової доброчесності.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Основні результати дисертації викладені в 16 наукових працях. З них 7 робіт – статті в журналах і збірниках, 6 з яких – 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», з них 1 стаття опублікована у виданні, що входить до наукової бази Scopus, 1 – у періодичному науковому виданні держави, яка входить до Європейського Союзу в напрямку якого підготовлено дисертацію; 9 тез – у матеріалах науково-практичних конференцій.

Питання, недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення. Під час вивчення роботи виникли наступні питання:

1. У дисертації підкреслюється важливість вивчення поліморфізмів гену

VEGF саме у етнічних українців. Чим, на Вашу думку, це обумовлено?

2. Як Ви вважаєте, чи можуть Ваші дослідження бути пов'язаними з результатами хірургічного лікування ДР?

3. Існує думка, що матеріал, забраний під час операції не може бути використаний для діагностики і прогнозування, оскільки, власне сама операція є фактором, що сильно впливає на вміст цитокінів. Як ви можете обґрунтувати необхідність забору матеріалу під час операції?

Зауваження.

1. Робота декілька перенасичена таблицями та іншим статистичним матеріалом, що заважає сприйняттю викладеного матеріалу.

2. В роботі зустрічаються поодинокі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні помилки.

Зазначені питання та зауваження не носять принциповий характер і не знижують наукової цінності дисертації.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження.

Отримані автором наукові та практичні дані обґрунтували проведення молекулярно-генетичних досліджень з метою визначення можливості прогнозу розвитку ДР. Це дозволяє вважати доцільним включення отриманих даних в клінічну практику очних відділень та відділень мікрохірургії ока, а наукові дані – для використання в програмах лекцій медичних навчальних закладів та закладів післядипломної освіти.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Я вважаю, що дисертаційна робота Захаревич Галини Євгенівни «Оптимізація діагностики розвитку та прогресування мікросудинних порушень при діабетичній ретинопатії за наявності цукрового діабету 2 типу» є завершеною науковою працею, що містить обґрунтовані наукові положення та результати, які розв'язують важливе науково-прикладне завдання офтальмології – підвищення

ефективності профілактики, діагностики та лікування хворих з діабтичною ретинопатією.

Представлена дисертаційна робота сучасна, актуальна, вносить вклад в теоретичну та практичну офтальмологію та відповідає вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 06.03.2019 р. № 167, а її автор – Захаревич Галина Євгенівна заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина».

Офіційний опонент:

Професор кафедри офтальмології
Національного університету
охорони здоров'я України
імені П. Л. Шупика МОЗ України,
доктор медичних наук, професор



Могілевський С.Ю.

Могілевського засвідчує
Учений секретар В.В. Торечук