

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Дмитрук Ірини Михайлівни

«Алельний поліморфізм генів, задіяних в процесах

метилування ДНК, в осіб підвищеного ризику

виникнення мутацій *de novo*»,

що представлена на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Актуальність теми. У сучасних людських популяціях відмічається висока розповсюдженість багатьох спадкових захворювань з різним віком маніфестації, які призводять до передчасної важкої інвалідності та смертності. Клінічний поліморфізм та генетична гетерогенність спадкових захворювань, особливості механізмів взаємодії генетичних і середовищних факторів, що лежать у їх основі, передбачають необхідність розвитку генетичних досліджень у кожній конкретній популяції. Дослідження механізмів та ендогенних чинників виникнення мутацій, які є етіологічною складовою багатьох патологій, є важливим питанням сучасної генетики.

Вибір представлених в дисертаційній роботі захворювань - ахондроплазії / гіпохондроплазії і онкопатологій, які асоційовані з певними генотипами пацієнтів і батьків, так само є актуальним і обґрунтованим. По-перше, хворі на ахондроплазію і гіпохондроплазію мають широкий спектр поєднаних природжених вад та ускладнень, але генетичні основи цих патологій в Україні досі не були представлені. По-друге, згідно сучасних даних, у гені рецептора фактору росту фібробластів 3 (*FGFR3*), у позиції 1138, мутації виникають найчастіше, що створює підстави для вивчення причин і схильності до виникнення мутацій саме у родинах з вказаними патологіями. По-третє, епігенетичним чинником мутацій *de novo*, та подальшої появи та розвитку, в тому числі і онкологічних захворювань, згідно сучасних уявлень, є зміни профілю метилування ДНК, процесів синтезу та репарації ДНК, гіперметилування генів-супресорів і генів системи репарації та

гіпометилювання промоторних ділянок онкогенів. Тому автором вибрано для аналізу низку генів, поліморфні варіанти яких, через зміну ензиматичної активності ферментів, можуть впливати на профіль метилювання ДНК, на процеси синтезу та репарації ДНК та можуть виступати у якості генетичних чинників мутацій *de novo*. Оскільки більшість злякисних новоутворень є результатом взаємодії поліморфних варіантів багатьох генів генних мереж, їх створення, аналіз кандидатних генів та визначення чинників появи мутацій також актуально проводити у кожній популяції, у тому числі і серед населення України. Таким чином, тема дослідження, обрана автором дисертаційної роботи, є своєчасною та актуальною.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами. У дисертаційній роботі І.М.Дмитрук представлено обґрунтування наукових положень на підставі результатів генетичного аналізу, проведеного на популяційному, сімейному, індивідуальному та молекулярному рівнях.

Автором визначено мутації гена *FGFR3*, які призводять до ахондроплазії та гіпоплазії у західному регіоні України, та представлено дані про їх поширеність. Наведено результати дослідження генів, одонуклеотидних поліморфізмів та їх комбінацій, які асоційовані із появою спадкових захворювань - ахондроплазії та гіпоплазії, та окремих видів онкопатологій у нащадків їхніх носіїв та самих носіїв. Результати проведеного генетичного аналізу дозволяють формувати групи ризику підвищеної схильності до виникнення мутацій для здійснення діагностичних і профілактичних заходів.

Дисертаційна робота І.М.Дмитрук має послідовний дизайн дослідження. Для реалізації мети дисертантом вирішувалися чітко сформульовані завдання, яким відповідають отримані результати, підсумовані у висновках. Дисертантом детально опрацьована література з теми дослідження, підібрано та використано сучасні методи для проведення генетичного аналізу, зібрано великий об'єм первинного матеріалу, проаналізовано отримані результати та представлено дані про впровадження їх у практичну діяльність.

Дисертаційна робота відповідає плану наукових досліджень ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» і виконувалась в рамках комплексних тем «Розробка ефективного молекулярно-генетичного підходу до діагностики і прогнозування поширеної спадкової і мультифакторної патології» (№ державної реєстрації — 0111U002657, 2011–2013 рр.), «Роль генетичного поліморфізму механізмів репарації і метилування ДНК в реалізації клінічного поліморфізму захворювань людини та визначенні схильності до виникнення соматичних і гермінативних мутацій» (№ державної реєстрації — 0114U001551, 2014–2016 рр.). Робота виконувалась за часткової підтримки Західно-українського біо-медичного дослідницького центру підтримки молодих вчених (WUBMRC). На конкурсних засадах отримано кошти для виконання проектів «Однонуклеотидний поліморфізм гена *DNMT3B* та його асоціація з онкозахворюваннями серед населення західної України» (14th completion of career development awards of WUBMRC for young biomedical researchers in western Ukraine, 2009–2010 рр.) та «Взаємозв'язок мутацій *657del5* гена *NBN*, *C677T* гена *MTHFR*, поліморфізму тандем них повторів гена *TYMS* та схильності до онкологічних захворювань» (19th completion of career development awards of WUBMRC for young biomedical researchers in western Ukraine, 2011–2012 рр.).

Наукова новизна роботи. Автором вперше представлено кількісні та якісні показники панелі мутацій гена *FGFR3* в Україні. Наведено результати аналізу частот мутацій *1138G>A*, *1138G>T*, *1620C>A*, *1620C>G* гена *FGFR3* серед пацієнтів з ахондроплазією і гіпохондроплазією з України у порівнянні з іншими етнічними групами. Автором представлені оцінки внеску окремих алелів, генотипів та їхніх комбінацій за поліморфними варіантами низки генів у виникнення мутацій, ймовірно, у статевих та соматичних клітинах, що призводять до розвитку новоутворень та ахондроплазії і гіпохондроплазії.

Автором також отримано дані щодо частот алелів та генотипів поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR*, *TYMS*, *DNMT3B* серед хворих на онкологічні захворювання та батьків дітей з ахондроплазією, представлено характеристики, на основі яких встановлені величини ризику розвитку онкологічних захворювань, що є передумовою формування індивідуального прогнозу і груп ризику для пацієнтів та родичів.

На основі отриманих результатів у практику медико-генетичного консультування запроваджено тестування панелі мутацій гена *FGFR3* для диференційної та пренатальної діагностики ахондроплазії та гіпохондроплазії, удосконалено методики тестування одонуклеотидних поліморфізмів генів *MTHFR*, *MTR*, *TYMS* та *TYMS* та наведено доцільність їх використання для прогнозування ризику розвитку раку грудної залози, лейкемій та лімфом.

Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках тексту, матеріали дисертації ілюстровано 25 таблицями та 12 рисунками. Список використаних джерел налічує 277 найменувань, з яких 262 - іноземних. Виклад матеріалу логічно пов'язаний з поставленою метою та завданнями, висновки, в цілому, відповідають поставленим завданням. У дисертації представлені усі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, узагальнення, висновки.

Відповідність автореферату змісту дисертації. Автореферат відповідає змісту дисертаційної роботи.

Повнота огляду та аналізу літератури у напрямі дослідження. В огляді літератури І.М.Дмитрук всебічно та критично аналізує сучасну літературу, присвячену питанням сучасного стану досліджень щодо поширеності, клінічного поліморфізму та генетичної гетерогенності, впливу факторів довкілля на ризик виникнення та розвитку вивчених захворювань в світі та в Україні, сучасних підходів до діагностики та генетичного прогнозування спадкової патології людини. Автор детально обговорює проблему генетичних

передумов злякисних новоутворень та ахондроплазії та гіпохондроплазії, алельного поліморфізму генів фолатного обміну, питань їхньої взаємодії з іншими генами, ролі різних генів в етіології спадкових хвороб людини, злякисних новоутворень.

Оцінка якості використаних методів досліджень, отриманих результатів, їх аналізу та обговорення. Дисертантом представлено відомості про об'єкт та методи дослідження, про використаний великий об'єм первинної інформації, медичної документації, зразків біологічного матеріалу пробандів. Методи генетичного аналізу адекватно підібрані. Автором використано традиційний спектр методів для проведення молекулярно-генетичного дослідження. Статистичний аналіз проведено за допомогою загальноприйнятих методів. Результати дослідження представлено у наочній формі, у вигляді таблиць, схем, електрофореграм, їх проаналізовано та співставлено с даними світової літератури. Отримані дані є базою для подальшої роботи з досліджень механізмів онтогенезу та взаємодії генів, подальшого розвитку системи досліджень злякисних новоутворень людини та моногенних хвороб. Висновки логічно витікають із проведених досліджень, зроблені автором відповідно до сучасних уявлень, цілком відображають основний зміст роботи і привертають увагу до основних моментів проведеного дослідження.

Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях. Основні положення дисертаційної роботи представлено у 12 наукових працях, з яких 5 статей у фахових періодичних виданнях, тези 7 доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях.

При рецензуванні дисертаційної роботи виникли деякі побажання, запитання та зауваження:

1. На підставі чого Ви стверджуєте, що «мутації *de novo*» виникли у батьків хворих на ахондроплазію саме в статевих клітинах? Адже відомо, і наведено у Вашому літературному огляді, що, крім вказаної причини, поява хворої дитини у здорових батьків може бути наслідком гонадного мозаїцизму або ж результатом виникнення мутації на ранньому етапі ембріогенезу?

2. На підставі чого Ви диференціювали спадкові і спорадичні форми ахондроплазії та гіпохондроплазії? Як встановлювали біологічне споріднення між батьками та нащадками? Тобто про спорадичну форму захворювання та мутації *de novo* коректно стверджувати, коли у біологічних батьків виключено виявлені у нащадків мутації.
3. Що Вам відомо про дослідження різних видів біологічних зразків при тестуванні мутацій, що спричиняють онкопатології, і як Ви це врахували у своїй роботі?
4. У окремих таблицях Ви об'єднали показники частот алелей і генотипів за різними поліморфними варіантами, визначивши їх як групи високофункціональних та низькофункціональних алелів чи генотипів, та проводили розрахунки по цих групах. Будь ласка, наведіть приклади з сучасної літератури про такий підхід проведення аналізу та подання даних.
5. У розділі «Результати досліджень і їх обговорення» було б доцільніше не надавати описового характеру та не приділяти багато уваги результатам, які не є статистично обґрунтованим, та, відповідно до мети, не дають підстав для обговорення та подальших висновків.
6. Було б корисно наводити статистики у таблицях, якщо їх немає у тексті, та окремі таблиці їх не містять (табл 3.5, 3.11, 3.20). Крім цього, доцільно було б наводити у таблицях дані ще й у відносних показниках, а не тільки в абсолютних (наприклад, табл.3.1).
7. Можливо, було б коректніше не так детально надавати інформацію про клініку, діагностику та лікування описаних в роботі захворювань та подробиці, описи та деталізацію окремих випадків, адже робота біологічна.
8. Автором в окремих місцях роботи використовуються не зовсім вдалі визначення, вирази і формулювання, наприклад, «частота поширеності» та інші,, та протягом викладу тексту було б коректніше використовувати одну і ту ж термінологію для позначення одних і тих же позицій або визначень.

Але усі зазначені недоліки та питання, які виникли в процесі рецензування, не принципіві, не впливають на позитивне враження від роботи та не зменшують її теоретичного та практичного значення.

Висновок. Дисертаційна робота Дмитрук Ірини Михайлівни «Алельний поліморфізм генів, задіяних в процесах метилування ДНК, в осіб підвищеного ризику виникнення мутацій *de novo*», є завершеною науково-дослідною роботою, в якій представлено рішення важливої наукової проблеми – визначення генетичних основ спадкових захворювань, що найчастіше виникають внаслідок мутацій *de novo*. Дисертаційна робота за своєю актуальністю, новизною, теоретичним значенням та практичною цінністю, глибиною та обсягом проведених досліджень цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», що ставляться до кандидатських дисертацій, а її автор, І. М. Дмитрук, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний оппонент

доктор біологічних наук

професор кафедри акушерства і гінекології

Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна

О.М.Федота

Підпис проф. Федоти О.М. завідувач
кафедрою акушерства і гінекології

