

## ВІДГУК

офіційного опонента Кучменко Олени Борисівни,  
доктора біологічних наук, професора, завідувача кафедри біології  
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя  
на дисертаційну роботу Барвінської Оксани Юріївни  
«Оптимізація селективного скринінгу спадкових порушень метаболізму  
амінокислот та ацилкарнітинів у дітей», подану на здобуття ступеня  
кандидата біологічних наук до спеціалізованої вченої ради Д 26.562.02  
при ДУ «Національний науковий центр радіаційної  
медицини НАМН України» за спеціальністю 03.00.15 - генетика

**Актуальність теми.** Дисертація Барвінської Оксани Юріївни безумовно є актуальною в теоретичному і практичному відношенні тому, що вона спрямована на пошук та розробку оптимальних підходів до діагностики спадкових порушень метаболізму амінокислот і ацилкарнітинів у дітей. Своєчасна рання діагностика спадкових порушень метаболізму амінокислот та ацилкарнітинів на сьогодні є однією із важливих завдань медичної практики, оскільки саме ці порушення часто призводять до ранньої неонатальної чи малюкової смертності або інвалідизації. Більшість з цих спадкових порушень проявляються в перші дні або тижні після народження швидкими змінами стану дитини, які носять неспецифічний, кризовий характер на фоні звичайного раціону годування. Основною запорукою ефективного лікування та уникнення розвитку тяжкої патології у дитини є рання нозологічна діагностика. Швидкість та точність діагностики розглядається як гарантія збереження життя дитини.

За останні два десятиліття основним методом діагностики спадкових порушень амінокислот та ацилкарнітинів став метод тандемної мас-спектрометрії. Однак цей метод також має свої недоліки, оскільки концентрація метаболітів залежить від багатьох чинників, які необхідно враховувати при інтерпретації результатів, зокрема вік, термін гестації у

новонароджених, стать, дієта, фізіологічний стан пацієнта (запальний процес, судоми). Всі ці чинники здатні впливати на метаболічний профіль крові і викликають зміни, які також спостерігають при спадкових порушеннях метаболізму. Окрім того, достовірна інтерпретація результатів тандемної мас-спектрометрії неможлива без урахування популяційних особливостей біологічної варіації показників і розрахунку референтних значень. В Україні такі дослідження досі не проводились.

У зв'язку з цим актуальність роботи Барвінської О.Ю. відповідає сьогоденним запитам біологічної та медичної науки, оскільки її метою є оптимізація селективного скринінгу спадкових порушень обміну амінокислот та ацилкарнітинів шляхом визначення біохімічних та молекулярно-генетичних особливостей пацієнтів з України з метою підвищення ефективності ранньої діагностики цих захворювань.

**Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами.** Дослідження виконані в рамках тематичного плану НДР кафедри медичної та лабораторної генетики НМАПО імені П.Л. Шупика «Визначення генетичних основ ризику розвитку патологічних станів на різних етапах онтогенезу» (№ державної реєстрації 0114U002215; 2014-2018) в якій автор була співвиконавцем роботи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Дисертантом вперше визначено межі біологічної варіації значень концентрації амінокислот та ацилкарнітинів в сухих плямах крові для доношених та недоношених новонароджених та для дітей від 7 днів до 18 років в Україні; визначено критерій диференційної лабораторної діагностики ізольованого дефіциту довголанцюгової 3-гідроксиацил-КоА дегідрогенази – співвідношення  $(C16OH+C18OH+C18:1OH)/(C0+C2) < 0,025$ ; розрахована частота ізольованого дефіциту довголанцюгової 3-гідроксиацил-КоА дегідрогенази в Україні, що становить 1:255 451 живих новонароджених; виявлено метаболічні профілі амінокислот та ацилкарнітинів у пацієнтів з ураженням печінки, які є маркером морфо-функціональних порушень печінки, але не

характерні для спадкових метаболічних порушень; встановлено, що місенс-заміна p.E474Q в гені *HADHA* є мажорною для жителів України і становить 94,4% (17/18); ідентифіковано нову неописану раніше місенс-заміну p.R326G в гені *MUT*, нові мутації p.S133C, c.49dupTGTGGCG в гені *IVD* та нову досі неописану місенс-заміну p.D396G в гені *GCDH* у пацієнтів з метилмалоновою ацидемією, ізовалеріановою ацидемією та глутаровою ацидемією I типу з України, відповідно, та проведено прогностичний аналіз патогенності цих мутацій.

**Практичне значення результатів дослідження.** Встановлені дисертантом на підставі біологічної варіації референтні інтервали рівня амінокислот та ацилкарнітинів в сухих плямах крові у дітей різного віку і статі дають можливість проводити точну і достовірну інтерпретацію результатів селективного скринінгу СПОАА. Визначені нами критерії розмежування первинних і вторинних метаболічних змін були покладені в основу розроблених алгоритмів диференційної лабораторної діагностики СПОАА, що має велике значення для підвищення ефективності ранньої діагностики цієї орфанної патології. Встановлені нами референтні інтервали рівня амінокислот та ацилкарнітинів в сухих плямах крові новонароджених можуть бути використані як базові при впровадженні масового неонатального скринінгу цих спадкових захворювань в Україні. Виявлена нами надзвичайно висока частота мутації p.E474Q в гені *HADHA* у пацієнтів з ізольованим дефіцитом ДЛ-3-ГАД з України (94,4%) свідчить про необхідність дослідження цієї мутації першим етапом підтверджуючої діагностики цього захворювання. Також, було виявлено, що у 5 пацієнтів з глутаровою ацидемією I-го типу з України всі мутації (p.R383C, p.G390R, p.A421V, p.R402W, p.D396G) були знайдені в 10, 11 та 12 екзонах гену *GCDH*, саме тому для підвищення ефективності лабораторної діагностики цієї спадкової патології слід проводити сиквенс насамперед цих трьох гарячих екзонів гену *GCDH*.

Отримані результати впроваджені в роботу Центру орфанних захворювань та Спеціалізованого медико-генетичного центру НДСЛ «ОХМАТДИТ» МОЗ України, використовуються в педагогічному процесі кафедри медичної та лабораторної генетики НМАПО імені П.Л.Шупика.

**Ступінь обґрунтованості та достовірність положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Достовірність результатів та висновків дисертаційної роботи базується на достатній кількості експериментальних біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень. У дисертації Барвінської О.Ю. застосовані сучасні біохімічні (метод тандемної мас-спектрометрії), молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція, метод капілярного електрофорезу, метод поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів, метод прямого автоматичного секвенування по Сенгеру) методи, адекватні поставленим завданням. На основі чітко сформульованих завдань, використання комплексного методичного підходу дисертанту вдалося досягти поставленої в роботі мети. Усі висновки дисертаційної роботи є обґрунтованими і доведеними.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.** У приведених публікаціях повністю відображено основні результати з усіх розділів дисертації. Автореферат Барвінської О.Ю. повністю розкриває зміст дисертації і дає повне уявлення про наукову цінність і практичну значимість дисертаційної роботи. Зміст автореферату ідентичний основним положенням дисертації. Оформлення дисертації та автореферату здійснено у відповідності до вимог ДАК МОН України. Ступінь оприлюднення матеріалів дисертації достатній.

**Загальна характеристика дисертації.** Дисертація Барвінської О.Ю. побудована за загально прийнятою та рекомендованою структурою: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень (3 розділи), висновки та список використаних джерел, що налічує 192 найменування. Дисертація викладена на 146 сторінках друкованого тексту, містить 30 рисунків та 35 таблиць, написана гарною науковою мовою.

У загальній характеристиці роботи автор розкриває суть обраного напрямку наукових досліджень та обґрунтовує його актуальність. Автором сформульовані мета, завдання дослідження, викладені наукове і практичне значення отриманих результатів. В огляді літератури Барвінська О.Ю. усебічно охарактеризувала існуючі на сьогоднішній день дані про роль жирних кислот та амінокислот при фізіологічних процесах та при спадкових порушеннях метаболізму. Автором наведено класифікацію спадкових порушень обміну амінокислот та ацилкарнітинів, основні методи діагностики цих патологій та основні проблеми, які призводять до хибних результатів та затримки діагностичного процесу. Крім того, автором представлено обґрунтування необхідності оптимізації селективного скринінгу спадкових порушень обміну амінокислот та ацилкарнітинів в Україні та аналіз можливих шляхів для реалізації підвищення ефективності рівня ранньої нозологічної діагностики, серед яких встановлення вікових референтних інтервалів, вивчення впливу різних чинників на метаболічні показники та аналіз спектру мутацій у таких пацієнтів.

У розділі «Матеріали і методи» докладно описано широке коло біохімічних та молекулярно-генетичних методів, які використовував дисертант для вирішення поставлених завдань. В цілому методи підібрані адекватно здійсненню поставленим меті та завданням.

З власних досліджень дисертанта випливає, що їм виконано велику за обсягом експериментальну роботу. Обговорення отриманих результатів проведено докладно і по суті. Воно відображає гарну обізнаність дисертанта з сучасним станом цієї наукової проблеми. Надзвичайно цінним для клінічної лабораторної діагностики є розробка дисертантом алгоритмів диференційної діагностики спадкових порушень обміну амінокислот і ацилкарнітинів та вторинних неспецифічних метаболічних змін. Автором показано, що використання зазначених алгоритмів підвищує ефективність лабораторного обстеження пацієнтів з підозрою на спадкові порушення обміну амінокислот і ацилкарнітинів. Застосування нових критеріїв, співвідношень та

молекулярно-генетичних підтверджуючих тестів дозволить скоротити час проведення лабораторного обстеження, що є особливо суттєвим для пацієнтів з тяжкою перинатальною патологією, судомами або ураженням печінки, що загрожує життю і потребує негайних терапевтичних втручань, в тому числі трансплантації печінки.

**Питання та побажання щодо змісту та оформлення дисертації.** Дисертаційна робота справляє позитивне враження – вона викладена доступно, логічно, добре оформлена. Оцінюючи дисертаційне дослідження, впевнено можна сказати, що одержані матеріали мають значне теоретичне та практичне значення. В якості побажань і зауважень слід відмітити наступне:

1. В розділі «Матеріали і методи» автором зазначено, що молекулярно-генетичні дослідження були проведені в групі хворих і в групі батьків пацієнтів високого ризику для встановлення діагнозу у дітей. Це зазначено у завданнях. Проте у висновках ця інформація відсутня. Було б краще навести ці результати.

Під час ознайомлення з роботою виникли деякі питання, на які хотілось би отримати відповідь:

1. Чим можуть бути обумовлені статеві відмінності між вмістом певних амінокислот (цитруліну, лейцину, аргініну, метіоніну) та ацилкарнітинів (C8:1, C5, C8)?
2. Враховуючи особливості метаболізму амінокислоти цитруліну, як автор може пояснити зростання її вмісту у пацієнтів із судомами.
3. У висновках 3 і 4 автор зазначає, що ураження печінки та судоми у пацієнтів без спадкових порушень обміну амінокислот і ацилкарнітинів можуть призводити до вторинних змін вмісту деяких амінокислот і ацилкарнітинів. На думку автора, чи є ці зміни причиною ураження печінки та виникнення судом, або наслідком?

Проте, як висновок, слід зауважити, що зауваження та поставлені питання не зменшують значущості даної роботи, яка в цілому, носить закінчений характер.

**Відповідність дисертації встановленим вимогам. Висновок.**

Дисертаційна робота Барвінської Оксани Юріївни “Оптимізація селективного скринінгу спадкових порушень метаболізму амінокислот та ацилкарнітинів у дітей”, представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 — генетика, є самостійною, завершеною науково-дослідною роботою.

За актуальністю, новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, глибиною узагальнень та висновків, а також за технічним оформленням представлена дисертаційна робота у повному обсязі відповідає вимогам МОН до кандидатських дисертацій та п. п. 11, 13 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів» постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року, а її автор, без сумніву, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 — генетика.

Завідувач кафедри біології  
природничо-географічного факультету  
Ніжинського державного університету  
імені Миколи Гоголя,  
доктор біологічних наук, професор

