

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертаційну роботу ТКАЧ ІРИНИ РОМАНІВНИ
” ОСОБЛИВОСТІ ХРОМОСОМНОГО СТАТУСУ ПРИ РАННІХ
РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТАХ У ЛЮДИНИ»,
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Актуальність теми дисертації.

Збереження репродуктивного здоров'я населення є важливою соціальною і медичною проблемою, зважаючи на стан нинішньої демографічної ситуації в Україні. Разом із підвищенням народжуваності, одним із потенціалів для покращення відтворення популяції є зниження рівня репродуктивних розладів, що призводять до втрат біля 20% бажаних вагітностей. Незважаючи на розроблені за останні роки численні методи діагностики і лікування таких станів, частота невиношування вагітності залишається високою. Відомо, що серед причин ранніх репродуктивних втрат вагоме місце посідає генетична складова, у структурі якої переважає хромосомна патологія. Тому дослідження щодо пошуку можливих механізмів, які зумовлюють виникнення хромосомних порушень *de novo*, або ранню загибель нормального ембріону, є актуальними і перспективними для генетичної науки і для подальшого удосконалення системи профілактики генетично обумовлених репродуктивних розладів. Зазначені актуальні проблемні наукові завдання зумовили вибір теми даного дисертаційного дослідження, метою якого стало вивчення особливостей каріотипу та теломерних ділянок хромосом у матеріалі ранніх репродуктивних втрат жінок із Західноукраїнського регіону, і на підставі отриманих даних обґрунтування можливих біологічних механізмів загибелі організму на ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку. Слід окремо зазначити, що на користь актуальності обраного дисертантом напрямку наукового дослідження свідчить і той факт, що воно було двічі підтримано грантами від Західноукраїнського Біо-Медичного Наукового Центру (WUBMRC).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій з їх критичною оцінкою порівняно з відомими рішеннями

Аналіз дисертаційної роботи, автореферату та публікацій за темою дисертації показав, що основні наукові положення, висновки та рекомендації відповідають меті та завданням дослідження і мають належне методологічне, теоретичне та експериментальне обґрунтування. Інформаційну базу склали 305

опрацьованих вітчизняних та зарубіжних джерел інформації, які відповідають специфіці дисертації.

У роботі був використаний широкий спектр методів, які відповідають сучасному науковому рівню – клініко-генеалогічний, цитогенетичний (GTG та iFISH), молекулярно-генетичний. Дослідження виконано на високому професійному рівні; вибірки пацієнтів однорідні і забезпечують репрезентативність дослідження, використані методичні підходи та статистична обробка даних адекватні меті та завданням роботи. Це свідчить на користь достовірності теоретичних та експериментальних результатів і обґрунтованості наукових висновків, які дійсно мають наукову новизну.

Достовірність і новизна отриманих результатів

Наукова новизна дисертаційного дослідження полягає у тому, що вперше було досліджено довжину теломерних ділянок хромосом у плода 5-12 тижнів внутрішньоутробного розвитку, на підставі чого запропоновано гіпотезу, що процес вкорочення може бути задіяним у механізмі елімінації нежиттєздатного потомства вже на самих ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку людини.

Вперше визначено показники відносної довжини теломер залежно від гестаційного терміну при нормальній і патологічній вагітностях. Встановлено, що у разі еуплоїдного каріотипу теломерні ділянки хромосом були суттєво вкорочені при мимовільно втрачених вагітностях порівняно з вагітностями, що розвивалися. Ще більш виражена статистично значуща різниця у довжині теломер спостерігалася при ранніх репродуктивних втратах залежно від каріотипу ембріона - мінімальна довжина була при аномальному хромосомному наборі.

Важливим здобутком даної дисертаційної роботи є також вивчення частоти та спектру хромосомної патології у матеріалі ранніх репродуктивних втрат жінок із Західноукраїнського регіону, що у цій суб-популяції проводилося вперше. Підтверджено залежність структури аномалій каріотипу від гестаційного терміну, віку та репродуктивного анамнезу жінки.

Висновки та наукові положення, наведені в дисертаційній роботі, обґрунтовані результатами експериментального дослідження у великій вибірці – 760 зразків ворсин хоріона від мимовільно втрачених вагітностей та 25 індукованих абортів. На користь достовірності отриманих результатів свідчать також обрані методи дослідження – адекватні поставленій меті і завданням та такі, що відповідають сучасному науковому рівню.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів.

Для досягнення мети і реалізації поставлених завдань дослідження використані сучасні методи молекулярно-цитогенетичного та статистичного аналізу, проведено значну і достатню кількість досліджень. Обрані методи відповідають меті та завданням дослідження. Результати оброблені відповідними статистичними методами і є репрезентативними.

Рекомендації з подальшого використання результатів роботи та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень.

Робота, беззаперечно, має науково-теоретичне значення, оскільки дисертантом вперше отримано дані щодо відносної довжини теломер на етапі раннього внутрішньоутробного розвитку та їхнього вкорочення при аномальному каріотипі та несприятливому закінченні вагітності. Ці результати є підґрунтям для подальшого продовження наукових досліджень із такого перспективного напрямку. Встановлення точних механізмів ранньої елімінації ембріонів дозволить в майбутньому запропонувати заходи щодо персоналізованої профілактики репродуктивних розладів у людини і буде в цілому сприяти збереженню генофонду.

Результати дисертаційної роботи мають також практичне значення задля покращення медичної допомоги родинам із ранніми репродуктивними втратами. Впровадження розроблених методичних підходів до молекулярно-цитогенетичних обстежень та визначення генетичних причин при втрачених вагітностях дозволять покращити медико-генетичне консультування та оптимізувати підходи для преконцепційної профілактики ранніх репродуктивних втрат.

Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації та автореферату

Дисертаційна робота побудована за стандартною схемою та містить 4 розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень та їх обговорення, висновки, додаток. Викладена на 141 сторінці, містить 25 рисунків, 15 таблиць. Список використаної літератури включає 305 найменувань, переважна яких – сучасні зарубіжні дослідження (264 роботи).

Розділ «Огляд літератури» складається з чотирьох підрозділів, і присвячений аналізу сучасного стану досліджень щодо причин ранніх

репродуктивних втрат, внеску генетичної компоненти у невиношування вагітності - зокрема, еволюції методів вивчення хромосомного матеріалу, спектру хромосомних аномалій серед завмерлих вагітностей, проблеми хромосомного мозаїцизму. Також розглядаються дослідження щодо ролі теломери на різних етапах онтогенезу людини в нормі і при патологічних станах. В огляді літератури, де в повному обсязі представлені всі напрямки дисертаційної роботи, здобувач висвітлює вже відомі наукові факти з даної проблематики, критично порівнює результати різних досліджень, а також окреслює низку актуальних невирішених наукових питань.

У розділі «Матеріали і методи» детально наведено методологію наукової роботи, включаючи опис використаних методик і вибраних для дослідження груп. Матеріал викладено стисло, конкретно і зрозуміло, що свідчить про повне володіння здобувачем сучасних і складних біологічних методів, які використано у роботі.

Розділ «Результати досліджень та їхнє обговорення» складається з п'яти підрозділів, які відповідають кожному із поставлених наукових завдань. У першому підрозділі представлено дані щодо частоти та спектру аномалій каріотипу у матеріалі ранніх репродуктивних втрат, що у Західноукраїнському регіоні проводилося вперше. Визначено, що у загальній групі ранніх репродуктивних втрат 5-14 тижнів розвитку хромосомна патологія була наявна у 39.3% зразках із наступною частотою у порядку спадання: аутосомна анеуплоїдія – 48.5%, поліплоїдія – 29.1%, гоносомна анеуплоїдія – 22.4%. Основними аутосомними трисоміями у матеріалі втрачених вагітностей є трисомія 16 (21.1%), анеуплоїдія 15 (9.4%), трисомія 22 (6.4%) та трисомія 21 (6.0%). Слід підкреслити, що свої результати дисертант вдало порівнює із зведеними даними по інших популяціях, аналізує причини відмінностей і це є ознакою якісної роботи.

Частоту та спектр аномалій каріотипу ембріону залежно від гестаційного терміну, віку та репродуктивного анамнезу жінки наведено у другому та третьому підрозділах. Узагальнені дані статистичної обробки великого масиву фактичного матеріалу свідчать, що спектр виявлених аномалій хромосом змінювався залежно від гестаційного терміну втраченої вагітності і, в основному, був зумовлений ступенем летальності конкретної хромосомної патології (так, поширеність хромосомних аномалій з меншим ступенем летальності – моносомії X та трисомії 21 позитивно корелювала із зростанням терміну втрати вагітності). Найвищий

відсоток хромосомної патології – 41.5% - зафіксовано у матеріалі вагітностей, втрачених протягом 6-10 тижнів гестації. Встановлено, що у матеріалі ранніх репродуктивних втрат від жінок віком понад 35 років значуще зростає частота аутосомних трисомій та зменшується частота поліплоїдії та моносомії X. Водночас, основною анеуплоїдією аутосом при ранніх репродуктивних втратах у жінок віком до 35-ти років є трисомії хромосом 16, 21 та 15, 22, 13 та 18 (у порядку спадання частоти), а у жінок старшого віку - трисомії хромосом 16, 15, 22, 21, 13 та 14.

Найбільший науковий інтерес представляють результати щодо відносної довжини теломер при нормальному та патологічному каріотипі ембріону, наведені у двох останніх підрозділах власних досліджень. Дисертант довів, що середнє значення відносної довжини теломер у матеріалі втрачених вагітностей є значуще нижчим порівняно з аналогічним показником у матеріалі індукованих абортів (0.43 ± 0.06 проти 1.17 ± 0.14 , $P=0.000001$). Встановлено вірогідну відмінність показників відносної довжини теломер між еуплоїдними зразками ранніх репродуктивних втрат та індукованих абортів (0.64 ± 0.12 і 1.17 ± 0.14 відповідно, $P=0.006$). Показано, що відносна довжина теломер статистично значуще відрізняється у матеріалі репродуктивних втрат з аномальним та нормальним каріотипом (0.29 ± 0.03 та 0.64 ± 0.12 відповідно, $P=0.0015$). Автором обґрунтовується гіпотезу, що присутність аномалій каріотипу та коротких теломер є важливими чинниками ранніх репродуктивних втрат у людини і підкреслюється перспективність продовження наукових досліджень у цьому напрямку.

Висновки узгоджуються з отриманими результатами, відображують зміст дисертації, відповідають меті та завданням дослідження.

В цілому, дисертацію та автореферат викладено сприйнятною літературною мовою, вони містять достатню кількість графічного матеріалу, які полегшують сприйняття тексту.

Відповідність автореферату змісту дисертації та повнота опублікування результатів досліджень по темі

Автореферат повністю відображає зміст дисертаційної роботи. За темою дисертації надруковано 19 наукових робіт, у тому числі 8 статей у наукових фахових виданнях, з яких 1 стаття в іноземному виданні, 10 тез доповідей, видано одні методичні рекомендації. Результати роботи представлялися на поважних вітчизняних та міжнародних конференціях.

Окремі дискусійні питання і зауваження

Разом із загальною позитивною оцінкою, у ході рецензування дисертаційної роботи виникла низка зауважень та дискусійних запитань.

Зауваження щодо оформлення тексту дисертації:

1. Є неточності у нумерації підрозділів 1.3 та 1.4 Розділу 1 «Огляд літератури»).
2. Розділ 2 «Матеріали і методи», який є відносно невеликим за обсягом, дещо перевантажено нумерацією розділів і підрозділів.
3. Є дуже великі за змістом таблиці (наприклад, табл. 3.7; 3.11), які досить важко аналізувати, і доцільно було б дані представляти в окремих таблицях, або додати графічного матеріалу (рисунок, діаграми до підрозділу 3.3.2).
4. Назву роботи можна було б сформулювати більш конкретно, відповідно до плануємих завдань.

Запитання до дисертанта:

1. Згідно отриманих результатів, частота хромосомної патології майже не відрізнялася у групах завмерлих до 6 тижнів, у 6-10 тижнів і 11-13 тижнів вагітностей, і найвищою з них була частота хромосомної патології у групі 6-10 тижнів. При цьому добре відомий факт, що частота хромосомних порушень знижується пропорційно гестаційному терміну. Як можна пояснити такі тенденції?
2. А чим можна пояснити зростання частоти летальної хромосомної патології триплоїдії у 11-14 тижнів порівняно з більш ранніми гестаційними термінами?
3. У роботі показано, що незалежно від кількості втрачених вагітностей, у жінок старшого віку (після 35-ти років) частка аутосомних трисомій збільшується, а моносомії та порушень пліодності - зменшується. З чим може бути пов'язаний цей факт?
4. Яким, на Вашу думку, може бути біологічний механізм впливу скорочення довжини теломер на виношування вагітності? Чи плануєте Ви продовжувати роботу у цьому напрямку? Якщо «так», то яким буде дизайн дослідження?

Однак, зазначені зауваження не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку.

Висновок.

1. Дисертація ТКАЧ ІРИНИ РОМАНІВНИ «Особливості хромосомного статусу при ранніх репродуктивних втратах у людини» є завершеним науковим дослідженням із актуальної проблеми визначення особливостей каріотипу та теломерних ділянок хромосом у матеріалі ранніх репродуктивних втрат та обґрунтуванні можливих біологічних механізмів загибелі організму на ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку.

2. Дисертаційна робота за своєю актуальністю, обсягом, науково-теоретичною та практичною значущістю, новизною отриманих результатів відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор ТКАЧ ІРИНА РОМАНІВНА заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,
доктор медичних наук, заступник
директора Комунальної лікувально-
профілактичної установи «Східно-
Український спеціалізований центр
медичної генетики та пренатальної
діагностики»

М.І.Ніколенко

М.І.Ніколенко

Підпис М.І. Ніколенко
Ст. спеціаліст з каріотипу
13.05.2019



М.І.Ніколенко