

## ВІДГУК

на дисертаційну роботу М. П. Веропотвеляна «Дослідження ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів на різних етапах внутрішньоутробного розвитку» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.15 - генетика

**Актуальність обраної теми.** Проблема репродуктивних порушень у населення України набула загрозливих розмірів і незважаючи на розвиток державних програм щодо підтримки дітонародження, негативно впливає на демографічні показники суспільства. До комплексу невирішених економічних і соціальних питань додається невизначеність медичної стратегії щодо прогнозування, своєчасного виявлення і спеціалізованої допомоги подружнім парам з репродуктивними втратами. За даними світових досліджень, внесок генетичної компоненти є доволі значним, особливо в генезі ранніх репродуктивних порушень. Вимогою часу було проведення наукового популяційного дослідження, яке б дозволило обґрунтувати ефективні заходи спеціалізованої допомоги родинам високого ризику в сучасних реаліях розвитку нашої країни. Відтак, дисертаційна робота М. П. Веропотвеляна, присвячена дослідженню ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів в динаміці внутрішньоутробного періоду є актуальною за своєю тематикою, спрямованістю наукових результатів і низкою запропонованих практичних заходів.

У **меті та задачах** дисертаційної роботи М. П. Веропотвеляна чітко окреслено стратегію наукового дослідження та напрямки вдосконалення системи профілактики генетично обумовлених репродуктивних розладів на основі комплексу цитогенетичних, молекулярно-генетичних, імуногенетичних, інструментальних досліджень та оцінки внеску середовищних чинників в генезі ранніх репродуктивних втрат. Дослідження виконувались в межах реалізації Державної програми «Репродуктивне

здоров'я нації», а пошуку молекулярно-генетичних механізмів репродуктивних порушень сприяло виконання НДР «Молекулярно-генетичні фактори тромбоутворення у хворих на Rh-негативні мієлопроліферативні неоплазії, які постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС" (№ держреєстрації 0114U002849, 2014-2016 рр.).

Дисертаційна робота написана за традиційною схемою літературною українською мовою і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, чотирьох розділів результатів власних досліджень, глави аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел ( налічує 447 найменувань) та п'яти додатків. Текст дисертації викладено на 340 сторінках машинопису і проілюстровано 57 таблицями та 138 рисунками.

***Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів***

Як свідчить матеріал викладений у розділі II, в дисертаційній роботі М. П. Веропотвеляна використано широкий спектр адекватних методів для вирішення поставлених задач на сучасному науковому рівні: це клініко-генеалогічні, популяційно-епідеміологічні, цитогенетичні, молекулярно-генетичні, імуногенетичні, патологоанатомічні, ультрасонографічні та інші інструментальні методи. Обсяг експериментальних досліджень є винятково репрезентативний: більше 180 584 вагітних жінок обстежено методом УЗД у I та II триместрах вагітності, цитогенетичні дослідження зроблені членам 1781 подружньої пари з ускладненим репродуктивним анамнезом та 3259 дітям, а також у матеріалі 1910 зразків завмерлих вагітностей та 1572 індукованих абортів. Популяційна однорідність дослідного матеріалу ( мешканці Південно-Східного та Центрального регіонів України) сприяла об'єктивності наукового результату у контексті його перспективного прикладного значення для населення нашої країни.

У підсумку, достатній обсяг експериментального матеріалу та застосування адекватних сучасних діагностичних підходів, у тому числі

статистичного аналізу, дозволили зробити обґрунтовані висновки, адекватні поставленій меті і завданням.

### ***Достовірність і новизна отриманих результатів***

Як було зазначено вище, репрезентативність дослідного матеріалу та адекватність використаних методів дослідження засвідчують достовірність отриманих результатів. До того ж, дисертаційна робота містить суттєву наукову новизну. Основні положення наукової новизни, які винесені в автореферат, не викликають заперечення по суті, але представлені занадто стисло, через що, на мою думку, недостатньо відображають значимість отриманого наукового результату.

Так, перше положення новизни звучить: «Проведено аналіз розподілу хромосомної патології серед завмерлих вагітностей на преємбріональному та ембріональному етапах розвитку». Результати вирішення цієї наукової задачі викладені у **III і частково V розділах дисертаційної роботи**, а їх підсумком служать чотири з дев'яти висновків (1, 2, 4, 6). Відповідно, виникає питання про причини обмеженого викладення нових результатів, які характеризують частоту і структуру хромосомних аномалій у преємбріональному та ембріональному періодах в українського населення.

У світовій літературі практично немає аналогів виконання монопопуляційного дослідження, в якому б поширеність хромосомних аномалій вивчалася на різних етапах внутрішньоутробного розвитку та ще й з окремим урахуванням завмерлих вагітностей, самовільних викиднів, пренатально діагностованих випадків, а також індукованих абортів і новонароджених. До того ж, уперше в українського населення охарактеризовано структуру хромосомної патології на різних етапах внутрішньоутробного розвитку, зважаючи на внесок аутомних трисомій, полісомій і моносомії X, структурних перебудов і поліплоїдії.

Зокрема, встановлено, що спектр аномалій хромосом у преємбріональному та ембріональному періодах охоплює аутомні трисомії **за всіма хромосомами** і навіть випадки множинних трисомій, а потім він

звужується зі збільшенням гестаційного терміну. Як свідчить рецензований матеріал, у портфелі дисертанта десята частина описаних у світі випадків рідкісних, подвійних та множинних трисомій в динаміці внутрішньоутробного періоду (31 з 321 на 2017 р.).

Надзвичайно цікавими з точки зору наукової новизни є результати щодо визначення частоти випадків поліплоїдії та її диференціації. Доведено, що у матеріалі завмерлих вагітностей I-го триместру має місце підвищена частота діандричних триплоїдій (батьківського походження внаслідок запліднення гаплоїдного ооциту двома гаплоїдними або одним диплоїдним сперматозоїдом), тоді як у фетальному періоді вже превалюють дигінічні триплоїдії (материнського походження внаслідок запліднення диплоїдного ооциту гаплоїдним сперматозоїдом). Цілком обгрунтовано зроблене припущення, що причиною завмирання вагітності у I-му триместрі є формування вкрай несприятливих для життя діандричних триплоїдій. Відповідно до цього виникли два запитання, які будуть оголошені наприкінці виступу.

Вважаю потрібним відмітити новизну вибіркового дослідження саме завмерлих вагітностей, оскільки представлені в літературі результати звично характеризують хромосомні аномалії в об'єднаному матеріалі завмерлих вагітностей і самовільних викиднів, що часом робив і сам дисертант. Чергові унікальні дані отримано дисертантом в результаті репрезентативного дослідження матеріалу індукованих абортів, що надало додаткові штрихи до структури хромосомних аномалій в українській популяції: відмінність структури порівняно з матеріалом ЗВ/СА є цілком очевидна.

Дисертантом також отримано абсолютно нові дані щодо структури хромосомних аномалій у випадках анембріонії, тобто завмирання вагітності до 5 тижнів розвитку, та їх порівняльного аналізу із матеріалом завмерлих вагітностей за наявності ембріону. Знайдено відмінності, що стосуються збільшення при анембріонії внеску структурних хромосомних перебудов та

тетраплоїдії поряд із зменшенням частоти випадків трисомії 14, 15 та моносомії X.

**IV-й розділ дисертації** (другий розділ власних результатів) присвячений дослідженню вроджених вад розвитку та ехографічних ознак, які вірогідно відображають їх наявність. На відміну від більшості відомих досліджень, які представляють мультицентрові або мета-аналізи, дисертаційна робота М. П. Веропотвеляна є прикладом репрезентативного монопопуляційного дослідження (більше 180 тис. УЗД), в якому комплекс сертифікованих ультразвукових маркерів застосовано для діагностики широкого спектру анатомічних дефектів, для верифікація яких було проведено 8968 інвазивних досліджень і виявлено 1118 випадків хромосомних аномалій плоду. Певне заключення за результатами виконання даного розділу увійшло до новизни, що послужило підставою до поданого нижче запитання.

**V розділ дисертації** (третій розділ власних результатів) присвячений порівняльному аналізу факторів виникнення репродуктивних втрат за наявності або відсутності хромосомних аномалій. Дисертант аналізував статеве співвідношення плодів при ранніх репродуктивних втратах, напрацьовував методику прогнозування хромосомної патології у потомстві залежно від віку матері та кількості попередніх втрат вагітності, а також досліджував внесок сезонності в генезі еуплоїдних та анеуплоїдних запліднень. З даного розділу до положень новизни дисертаційної роботи внесено наступне: «Продемонстровано сезонні коливання зачатъ, що закінчилися репродуктивними втратами з наявністю та відсутністю хромосомної патології». Доведено, що при зачатті у період з жовтня по березень ризик невиношування вагітності зростає на 4% ( $p < 0,05$ ) незалежно від каріотипу плоду, що дисертант пояснює впливом певних екзогенних факторів у зимовий період. Оскільки відомі дослідження ролі сезонності виключно стосувалися народження дітей із синдромом Дауна, це положення

заслуговує на новизну, хоча цінність його використання у практиці медико-генетичного консультування представляється сумнівною.

Дисертант перший вивчав зв'язок ризику замирання вагітності із віком матері залежно від характеру хромосомної патології ембріону. Це дозволило визначити достовірну поширеність випадків триплоїдії у матеріалі замерлих вагітностей дуже молодих матерів (17-19 років) порівняно з жінками віком старше 35 та особливо 40 років, де вірогідно частіше виявлялися аутосомні трисомії. У продовженні цього, узгоджено з відомими даними щодо зростання ризику анеуплоїдій у матерів віком після 40 років, дисертантом доведено підвищений у 5,6 рази ризик замирання вагітності анеуплоїдним потомством у жінок згаданого критичного віку.

Цікавий результат отримано щодо зменшення ризику хромосомної патології ембріону із збільшення числа самовільних викиднів. Саме ґрунтуючись на цьому положенні зроблено висновок, що зростання ризику хромосомної патології у потомства з віком матері не є основним етіологічним чинником репродуктивних розладів у жінок зі звичним невиношуванням вагітності. В якості можливого пояснення звичного невиношування вагітності, не асоційованого з хромосомними аномаліями плоду проведено комплекс молекулярно-генетичних та імуногенетичних досліджень, результати якого представлені в **VI розділі дисертації** (четвертий розділ власних результатів).

У даному розділі наведено результати генетичного тестування поліморфізмів *MTHFR* C677T та *MTR* A2756G, асоційованих з якістю метаболізму метильних груп у фолатному та метіоніновому циклах; мутацій трьох генів гемостазу (G455A *FGB*, A20210A *FII*, G1691A *FV*) та алельних варіантів *HLA II* класу при репродуктивних розладах в залежності від спонтанного чи звичного переривання вагітності, формування ембріональних структур, стану каріотипу та наявності вад розвитку невральної трубки.

Дисертантом доведено асоціацію генотипу 677TT *MTHFR* зі значним підвищенням ризику анембріонії при еуплоїдній вагітності, тоді як

носійство мутації G455A *FGB* суттєво підвищувала ризик відшарування плаценти, антенатальної загибелі плоду та мертвонародження.

**Практичне значення роботи** тісно пов'язане з отриманими науковими результатами та їх новизною, а у підсумку, це персоналізоване прогнозування ризику репродуктивних втрат на основі результатів каріотипування батьків і ембріонального матеріалу, врахування кількості попередніх замерлих вагітностей; у жінок з відшаруванням хоріону/плаценти в анамнезі проведення генетичного тестування мутації G455A гена *FGB* та гемостазіологічних досліджень за наявності алельного варіанту *FGB* 455A; індивідуальний підбір дози фолієвої кислоти на етапі планування вагітності та у I триместрі у жінок-носіїв генотипу *MTHFR* 677TT, що мали еуплоїдну замерлу вагітність з анембріонією; генотипування головного комплексу гістосумісності *HLA II* класу у подружжям зі звичним невиношуванням вагітності та наявністю в анамнезі еуплоїдних ранніх репродуктивних втрат. Важливим на мою думку є заперечення доцільності призначення інвазивних досліджень без комплексної оцінки індивідуального генетичного ризику, а також тестування поліморфізмів генів фолатного циклу для прогнозу потомства у подружніх пар, які мали в анамнезі дітей або репродуктивні втрати з хромосомними аномаліями.

Характеризуючи **особистий внесок здобувача**, слід відзначити: розробку основних положень дисертаційної роботи, вибір методів дослідження, самостійний набір клінічного матеріалу та виконання клініко-генеалогічних, ультразвукових, інвазивних досліджень, забору матеріалу для пренатальних цитогенетичних і молекулярно-генетичних досліджень, самостійно проводив узагальнення результатів, оформлення тексту дисертації, формулювання висновків та розробку практичних рекомендацій. Внесок співавторів роботи відмічений у спільних публікаціях.

**Повнота використання в роботі літератури в даній галузі.** В огляді літератури та при обговоренні отриманих результатів дисертант ґрунтовно

аналізує причини ранніх репродуктивних порушень та внесок генетичних чинників в їх реалізацію. У переліку літературних джерел достатньо багато публікацій останніх років, хоча гідне місце займають роботи 70-80 рр, присвячені дослідженню ембріонального, у тому числі абортівного матеріалу, що нині є практично неможливим. Проведений аналіз дозволив обґрунтувати мету та визначити задачі дисертаційної роботи, а критичне співставлення власних результатів з даними світової літератури стало підставою для визначення новизни її окремих положень та вдосконалення практичних підходів.

***Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.***

Репрезентативний обсяг дослідного матеріалу, застосування адекватних сучасних методів аналізу та варіаційної статистики вказують на обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій дисертаційної роботи М. П. Веропотвеляна.

***Рекомендації по подальшому використанню результатів праці та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень.*** Вважаю, що проведені дослідження створили підґрунття для вдосконалення системи лікарського супроводу родин з групи високого ризику репродуктивних втрат. Роботу варто продовжити в розрізі адаптації розробленого комплексного підходу щодо аналізу ранніх репродуктивних втрат в родинях високого ризику до широкого практичного використання, щоб поширити набутий досвід на усі медико-генетичні та перинатальні центри України.

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

Автореферат загалом відповідає змісту дисертаційної роботи, хоча існують деякі розбіжності у характеристиках структури і обсягу дисертації. Як в авторефераті, так і в дисертації зустрічаються невеликі стилістичні вирази, але загалом робота сприймається позитивно.



***Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях, перелік яких затверджено МОН:***

Основні положення дисертаційної роботи М. П. Веропотвеляна опубліковані у 83 наукових працях, серед яких 30 статей у вітчизняних періодичних виданнях; 13 – у міжнародних виданнях; 1 патент на корисну модель. Матеріал дисертації широко апробувався на вітчизняних та міжнародних наукових форумах, що засвідчують тези 40 доповідей у матеріалах наукових конференцій та з'їздів; патент на корисну модель.

***Зауваження щодо змісту дисертації***

Як в авторефераті, так і в дисертації зустрічаються орфографічні помилки та невдалі стилістичні вирази, як наприклад: «Причини самовільного переривання вагітності у випадку хромосомного дефекту зиготи/ембріону більш-менш зрозумілі, однак все ж остаточно не вивченими залишаються причини його формування» або «ця тенденція не відрізняється від загальної вікової залежності» (???). У вступі до автореферату бракує посилань на раніше проведені дослідження, які власне і наштовхнули дисертанта поєднати в єдиний комплекс використані напрямки і методи досліджень. Наприкінці вступу, у меті, раптом з'явилася пренатальна діагностика, яка повинна була прозвучати раніше у контексті ефективного прогнозування та діагностики хромосомної патології плоду.

Дисертація перенавантажена матеріалом, який не розкриває її суті, а спрямований на методичне обґрунтування обраної стратегії досліджень. Не завжди у таблицях поряд з абсолютними даними присутні показники щодо статистичної значущості виявлених відмінностей. У таблицях зустрічається поєднання декількох шрифтів та виділення певної цифрової інформації напівжирним шрифтом. Деякі таблиці розміщені задалеко від їх першого згадування (6.10). Таблиць не 55, а 57, тому що в другому розділі дисертації дві таблиці 2.2, а у четвертому – таблиці 4.1а та 4.1б. Що стосується рисунків, бракує електрофореграм, які демонструють молекулярно-генетичний аналіз дослідженого поліморфізму в гені метіонінсинтази та генів

гемостазу. Я не знайшла каріограм анембріонії, хоча серед них вивчалось співвідношення статі. Немає каріограм поліплоїдії у матеріалі завмерлих вагітностей, а також демонстрацій аномалій хромосом у матеріалі індукованих абортів (а їх 85 випадків). Найвні демонстрації каріотипу завмерлих вагітностей (рис. 3.17 – транслокація хромосом 21; рис. 3.25 – трисомія 1; 3.33 – трисомія 8), але зважаючи на високу частоту (994 випадки ЗВ/СА) та рідкісний спектр виявленої хромосомної патології мені, як цитогенетику, звичайно хотілося, щоб їх було більше.

Достатньо репрезентативно представлені приклади аномалій каріотипу пренатально обстежених плодів і подружніх пар з репродуктивними розладами. Проте часом втрачається порядок їх викладення та зв'язок із текстом. Наприклад, у тексті дається посилання на певні рисунки, які мають служити прикладом поширених серед подружніх пар транслокацій з залученням хромосом 1, 2, 3, 9, 16, і один із них (рис. 3.30) раптом виявляється каріограмою із транслокацією між четвертою та восьмою хромосомами. Після таблиці 3.12, де згруповано родинні випадки сбалансованих аномалій хромосом, які завершилися завмиранням вагітності, розміщено каріограму пацієнтки (рис. 3.34), яка взагалі не згадується в цій таблиці. Звичайно це у певному сенсі «описки» через великий обсяг викладеного матеріалу, проте при написанні подальших статей та оформленні монографії за матеріалом дисертації їх безперечно треба виправити. Висловлені зауваження не знижують загального позитивного враження від дисертаційної роботи М. П. Веропотвеляна, але у порядку дискусії хотілося б ще почути відповіді на наступні запитання:

1. Що сприяє підвищеному утворенню діандричних триплоїдій, які за даними літератури складають біля 70% усіх триплоїдій.

2. Що є причиною летального ефекту діандричних триплоїдій у порівнянні з дигінічними триплоїдіями.

3. Роз'ясніть будь-ласка положення: «Виявлено особливості співпадінь алелів комплексу гістосумісності у подружніх пар залежно від каріотипу попередніх завмерлих вагітностей».

4. «Визначений рейтинг ехографічних ознак» увійшов до новизни дисертаційної роботи. Чи опрацьований вами алгоритм на основі рейтингу ехографічних ознак відрізняється від сучасних рекомендацій експертів з ультразвукової діагностики стану плоду? У чому полягає новизна для української популяції?

### **Висновок**

Вважаю, що дисертаційна робота М. П. Веропотвеляна «Дослідження ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів на різних етапах внутрішньоутробного розвитку» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримав подальший розвиток науковий напрямок щодо співвідносної ролі генетичних та середовищних чинників репродуктивних втрат в українського населення. За актуальністю обраної теми, ступенем обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, новизною та практичною значущістю дисертаційна робота Миколи Петровича Веропотвеляна «Дослідження ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів на різних етапах внутрішньоутробного розвитку» повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету міністрів № 567 від 24 липня 2013 року, а її автор заслуговує на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,  
доктор медичних наук, професор  
заступник директора ДУ  
«Інститут спадкової патології  
НАМН України»  
12.06.2017 р.

