

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Веропотвеляна Миколи Петровича «Дослідження ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів на різних етапах внутрішньоутробного розвитку», представлену на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Актуальність обраної теми.

Демографічна ситуація в Україні на сьогодні набула характеру гострої демографічної кризи, ключові ознаки якої - несприятливі зміни не тільки у кількості, а й здоров'ї населення. Основною причиною загострення демографічної кризи в Україні є зниження до критичного рівня народжуваності, при цьому забезпечується лише половина потрібного для відтворення населення. Процес зниження народжуваності у сучасних умовах має глобальний характер і зумовлений низкою економічних, соціальних, біологічних причин. Спостерігається масове поширення бездітності та одностітності: дві третини сімей мають лише одну дитину, близько 15 % вагітностей закінчується репродуктивними втратами, водночас відмічається збільшення смертності і відсутність природного приросту. В таких умовах проблема збереження генофонду набуває дедалі більшої актуальності в Україні.

Існує нагальна потреба в наукових дослідженнях щодо розробки ефективних алгоритмів надання медико-генетичної допомоги родинам з порушеннями репродуктивної функції, а також оцінки ризику виникнення хромосомної патології та вроджених вад розвитку у нащадків. Тому для дисертаційного дослідження обрана актуальна медико-соціальна проблема, вирішення якої дозволить підвищити ймовірність успішної реалізації репродуктивного потенціалу родини.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів. Дисертаційна робота має ґрунтовну методологічну основу, вона проводилася з використанням системного підходу та урахуванням багатьох чинників, що забезпечило рішення поставлених завдань.

Великий обсяг фактичного матеріалу зумовив репрезентативність вибірки і отримання достовірних висновків - у роботі проаналізовано результати цитогенетичного дослідження 3380 продуктів концепції завмерлих вагітностей та медичних абортів I триместру, близько 9 тис. інвазивних пренатальних досліджень, 1781 подружньої пари з невиношуванням вагітності, 3259 дітей з підозрою на хромосомну патологію. Проведено ультразвукове дослідження 180 584 вагітних жінок у I та II триместрах вагітності. На наступному етапі проведена комплексна молекулярно-генетична діагностика при невиношуванні вагітності та в разі відшарування хоріону/плаценти, мертвонародженні, при наявності хромосомної патології та дефектів нервової трубки у плодів і дітей. Ці дослідження включали 781 випадок невиношування вагітності, 65 випадків антенатальної загибелі плода/ мертвонародження, 105 випадків дефектів зарощення нервової трубки у плода, обстеження 328 жінок, які мали вагітності з ХА(в т.ч. 84 випадки синдрому Дауна). На кожну вагітну жінку із основної і контрольної груп було отримано повну анамнестичну інформацію про закінчення вагітності, що дозволило робити обґрунтовані висновки. Використані статистичні методи адекватні поставленим завданням.

В цілому обсяг експериментального матеріалу та застосування адекватних методів дозволяє зробити обґрунтовані висновки.

Достовірність і новизна отриманих результатів.

Дисертаційна робота містить суттєву наукову новизну. На підставі масштабного цитогенетичного дослідження завмерлих вагітностей та рандомізованої вибірки медичних абортів здобувачем визначено поширеність всіх типів хромосомних аномалій в I триместрі вагітності.

Встановлено та підтверджено для української популяції найбільш вагомі генетичні чинники, які асоційовані з певними видами порушень репродуктивної функції. Автором уточнено рейтинг ехографічних ознак (анатомічних аномалій розвитку та ехо-маркерів), які виявляються при різних типах хромосомної патології плоду, та оцінено їх діагностичну значущість для пренатальної діагностики вроджених вад розвитку хромосомної етіології.

На власній вибірці продуктів концепції завмерлих вагітностей визначено асоціацію поліморфних варіантів генів фолатного обміну з формуванням анембріонії. Встановлено асоціацію поліморфізму G455A гена фібриногену з відшаруванням хоріону/плаценти, антенатальною загибеллю плода та мертво народженням. Дисертантом вивчався розподіл алелів системи *HLA II* класу у подружніх пар зі звичним невиношуванням вагітності з урахуванням каріотипу завмерлих ембріонів при попередніх вагітностях, який підтвердив, що гістосумісність подружжя є окремим незалежним етіологічним фактором невиношування вагітності.

Систематизація отриманих наукових даних дозволить здобувачеві запропонувати якісну систему спостереження родин з невиношуванням вагітності, яка також буде сприяти підвищенню загального методичного рівня медико-генетичного консультування в нашій країні.

Практичне значення результатів дослідження.

Робота, беззаперечно, має велику практичну значущість. Отримані результати надають наукове обґрунтування конкретним заходам профілактики вродженої патології та хромосомних аномалій родинам з порушеннями репродуктивної функції і сприяють народженню в них здорового потомства.

Застосування прямого методу каріотипування продуктів концепції завмерлих вагітностей дозволило отримати надійні результати по визначенню хромосомного набору завмерлого ембріону, скоротити час дослідження, що стало економічно доцільним методом діагностики.

Проведена дисертантом комплексна оцінка факторів невиношування вагітності та формування вродженої патології плода дозволила розширити діагностичні рамки при медико-генетичному консультуванні, надала можливість додатково оцінювати ризики (формування хромосомної патології плоду при наступних вагітностях, відшарування хоріону/плаценти, невиношування вагітності в цілому тощо), що дасть можливість лікарям – генетикам, акушерам-гінекологам та репродуктологам обрати для таких жінок

індивідуальний план спостереження і своєчасно запобігти розвитку патологічних станів.

Слід відзначити також *особистий внесок здобувача*: розробку основних положень дисертаційної роботи, вибір методів дослідження, самостійне виконання ультразвукових обстежень та інвазивних втручань з метою забору матеріалу для пренатальних цитогенетичних та молекулярно-генетичних досліджень. Дисертант самостійно виконував формування груп вибірок пацієнтів та біологічного матеріалу, контролював відбір та обстеження пацієнтів; провів пошук та обробку даних літератури, опрацював результати роботи та підготував текст дисертації. Внесок співавторів чітко охарактеризований в дисертації, авторефераті та спільних публікаціях.

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

Дисертація побудована за загальноприйнятою формою, відповідає встановленим вимогам і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, 9 висновків, практичних рекомендацій, переліку використаних джерел (447 посилань) та 5 додатків. Матеріал дисертаційної роботи викладено на 340 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстровано 55 таблицями та 138 рисунками. Структурну побудову роботи обрано вдало. Академічно подані питання розділів і підрозділів відображають постановку відповідної конкретної наукової проблеми, кожна із якої надалі знаходить належне розв'язання. Кожен з розділів власних досліджень закінчується обговоренням та стислим резюме, в якому підсумовано отримані результати і наведено публікації здобувача стосовно відповідної тематики.

У вступі підкреслено актуальність теми, наукову новизну та практичну значущість роботи, особистий внесок здобувача у виконання роботи, апробацію результатів. Чітко визначення об'єкта та предмета дослідження, мети, завдань

та структури роботи дали можливість здобувачеві досягти вагомих наукових результатів, які не були розв'язані у роботах інших дослідників.

Варто відзначити опрацювання, систематизацію та критичний аналіз широкого кола літературних джерел вітчизняних і закордонних фахівців (розділ I), що дозволило охарактеризувати сучасне уявлення про епідеміологію та етіологічні чинники невиношування вагітності, надати інформацію щодо цитогенетичних та молекулярно-генетичних причин порушення репродуктивної функції, оцінити вплив різних незалежних факторів, що приводять до загибелі як еусплоїдної, так і анеусплоїдної вагітності; висвітлено сучасний стан пренатальної діагностики хромосомної патології плода. Визначення та формулювання актуальних невирішених питань у галузі генетичних аспектів порушень репродуктивної функції повністю обґрунтовують напрямки подальших досліджень здобувача.

У розділі II - "Матеріали і методи" наведено характеристики обстежених і контрольних груп, описано методичні підходи до виконання роботи, які адекватні поставленим завданням і дозволяють робити обґрунтовані висновки. У роботі використано клініко-генетичні, цитогенетичні, молекулярно-генетичні, патоморфологічні, інструментальні методи дослідження (ехографія, гістероскопія, ревізія порожнини матки; інвазивні методи пренатальних досліджень) та статистичні методи, що відповідають сучасному науковому рівню.

Для статистичного аналізу обрані відповідні методи: визначення достовірності відмінностей вибірок проводилось з використанням методу кутового перетворення Фішера, непараметричних критеріїв χ^2 та Крускала-Уолліса при $P < 0,05$.

В розділі III (перший розділ власних досліджень) на підставі масштабного цитогенетичного дослідження завмерлих вагітностей та крупної рандомізованої вибірки медичних індукованих абортів автором вперше розраховано поширеність різних хромосомних аномалій (в т.ч. рідкісних анеусплоїдій) в I триместрі вагітності. Представлений аналіз спектру хромосомних аномалій на

різних етапах внутрішньоутробного розвитку, показано поступове зменшення частки рідкісних трисомії, триплоїдій, тетраплоїдій в структурі виявлених ХА.

Також вперше проведено аналіз розподілу хромосомної патології серед завмерлих вагітностей на преембріональному та ембріональному етапах розвитку. Автором продемонстровано, що анембріонії характеризуються дещо іншим частотним спектром ХА в порівнянні з завмерлими вагітностями з ембріоном. А також проаналізовано терміни загибелі вагітності в залежності від типу хромосомної патології та наявності або відсутності ембріону.

При розгляді генетичних аспектів порушень репродуктивної функції у подружніх пар було приділено увагу цитогенетичним та молекулярно-генетичним особливостям пацієнтів з ранніми репродуктивними втратами (розділи III,VI). Встановлено, що аномалії каріотипу визначалися у 7,8% подружніх пар з невиношуванням вагітності. При цьому чітко охарактеризовано структуру хромосомних аномалій як у жінок, так і чоловіків. При вивченні розподілу генотипів за поліморфізмом С677Т гена *MTHFR* у дослідженій субпопуляції дисертагентом встановлено, що наявність у жінки генотипу 677ТТ є чинником високого ризику анембріонії, а також дефектів первової трубки у плода, але не має асоціації із виникненням хромосомної патології у потомства. Встановлено, що комбінований гетерозиготний генотип за локусами С677Т *MTHFR* та А2756G *MTR* у жінки збільшує ризик повторного переривання вагітності у 3,5 рази. Вагомий внесок також зробило дослідження гомологічності алелів системи гістосумісності з урахуванням каріотипу ембріону.

Окремим напрямком дисертаційної роботи (розділ IV) було вивчення інформативності та частоти зустрічальності широкого спектру вроджених вад розвитку та ультразвукових маркерів при різних хромосомних анеуплоїдіях плода, яке показало, що для хромосомних синдромів більш характерне поєднання морфологічних аномалій розвитку та певних стигм дизембріогенезу, а ізольовані ехографічні ознаки з низькою інформативністю не можуть бути

показанням для призначення інвазивних пренатальних досліджень без комплексної оцінки індивідуального генетичного ризику.

Розділ V дисертаційного дослідження, поряд з іншими напрямками, присвячений сезонним особливостям формування хромосомної патології, де вивчалися зачаття як завмерлих вагітностей з хромосомними аномаліями та без, окремо проаналізовано сезонні особливості зачаття з різною хромосомною патологією в порівнянні з масштабною вибіркою зачаття, які закінчилися народженням здорових, доношених дітей. Автором показано залежність від сезону року у розподілі зачаття, які закінчилися репродуктивними втратами. Незалежно від каріотипу плода, ризик невиношування вагітності зростає при зачатті у період з жовтня по березень, що свідчить про вплив певних екзогенних факторів у зимовий період. Дисертантом доведено, що ризик мати завмерлу вагітність з анеуплоїдією підвищений у 5,6 рази для жінок після 40 років порівняно з жінками віком до 40 років, і ця тенденція не відрізняється від загальної вікової залежності ХП. Водночас, частота хромосомної патології у ембріонів зменшується при збільшенні числа самовільних абортів незалежно від віку матері - у 1,5 рази при чотирьох та у 2 рази при п'яти та більше епізодах репродуктивних втрат.

Важливим напрямком дисертаційної роботи стало вивчення мутацій генів системи гемостазу (розділ VI). Було показано, що ризик невиношування вагітності в I триместрі пов'язаний з мутацією гена протромбіну. Встановлено, значуще підвищення ризику відшарування хоріону/ плаценти чи антенатальної загибелі плода при носійстві генотипу 455 AA гена *FGB*.

Таким чином, ці дослідження дозволяють формувати групи високого генетичного ризику невиношування вагітності та вищезазначених патологічних станів, що суттєво полегшує профілактику та терапію таких пацієнтів для практичних лікарів.

В цілому, матеріали дисертаційної роботи добре проаналізовані і узагальнені. Форма викладу результатів досліджень, наукових положень, висновків та рекомендацій чітка, логічна і зрозуміла, а літературна якість

дисертації і автореферату, попри деякі недоліки, забезпечує доступність сприйняття.

У дисертаційній роботі вирішена низка взаємопов'язаних завдань, з огляду на які можна стверджувати про досягнення поставленої мети дослідження. Наукові положення, висновки і практичні рекомендації співпадають з результатами виконаних досліджень, всебічно обґрунтовані, є достовірними, мають наукову новизну і практичну значущість, апробовані та впроваджені в практику.

Ступінь обґрунтованості та достовірності основних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обсяг матеріалу, що використовувався для дослідження, застосування відповідних 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 створюють основу для розробки цілісної системи медико-генетичної допомоги родинам з репродуктивними розладами, в першу чергу з невиношуванням вагітності та з підвищеним ризиком хромосомних аномалій у потомства. Роботу варто продовжити та поширити набутий досвід з охопленням всіх медико-генетичних центрів України, а також кабінетів планування сім'ї.

Повнота використання в роботі наукової літератури в даній галузі.

В огляді літератури та при обговоренні отриманих результатів дисертант використав 447 літературних джерел, у переліку яких переважають публікації останніх років, однак є посилання і на деякі фундаментальні роботи 70-80 рр., що в цілому дозволило охарактеризувати ступінь вивчення представлених питань у світі.

Повнота викладення матеріалу дисертації в опублікованих роботах і авторефераті.

Дисертаційна робота має належний рівень апробації на численних міжнародних та вітчизняних конгресах, симпозіумах, науково-практичних конференціях. Основні результати дослідження опубліковані у 83 друкованих працях, отримано 1 патент на корисну модель. У публікаціях висвітлено всі наукові здобутки дисертаційної роботи. **Автореферат повністю відповідає основному змісту дисертації**, містить усі необхідні розділи і оформлений відповідно до вимог МОН України.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації і автореферату.

При загальному позитивному враженні від дисертації звертають на себе увагу деякі недоліки, які стосуються невдалих стилістичних висловів та оформлення роботи: неоднакової щільності тексту через бажання автора розмістити рисунок або таблицю в максимальній близькості після їх згадування, окремі орфографічні помилки в тексті дисертації та автореферату тощо. Слід також відмітити не завжди вдале розташування ілюстративного матеріалу відносно їх згадування в тексті дисертації.

В дисертаційній роботі здобувачем детально розглядаються та вивчаються цитогенетичні, молекулярно-генетичні фактори, що пов'язані з ранніми репродуктивними втратами. В той же час не конкретизовані і недостатньо висвітлені інші причини, які можуть виступати як незалежні чинники, що призводять до певиношування вагітності, наприклад, такі, як аномалії розвитку статевих органів, гормональні розлади (наприклад, прогестеронова недостатність), порушення рецензорного апарату ендометрію тощо. Але, можливо, це пояснюється тим, що дана дисертаційна робота виконується за напрямком «генетика» і всі дослідження виконувались переважно в межах цієї області.

Визнаючи вагомі здобутки дисертаційного дослідження, вважаю за необхідне висловити деякі запитання, які виникли під час рецензування дисертаційної роботи:

1. Чим Ви можете пояснити, що за результатами Вашого дослідження T/T генотип за поліморфізмом С677Т гена *MTFR* в контрольній групі жінок

зустрічався з частотою 1,8%, в той час як в інших дослідженнях, проведених в Україні (наприклад, Чорна Л.Б., 2011, Макух Г.В., 2012), цей показник складає 5%?

2. Вами встановлено, що у жінок, які мали еуплоїдні завмерлі вагітності з анембріонією та жінок, які мали плід з дефектом первової трубки, генотип 677ТТ *MTHFR* зустрічався з частотою 20,0% та 17,5% відповідно. Також відмічено, що наявність генотипу 677ТТ у матері збільшує як ризик анембріонії, так і дефектів зародження нервової трубки в 12 разів. На Вашу думку між цими групами патології є якийсь взаємозв'язок і чим він може пояснюватися?
3. Відповідно до результатів Ваших досліджень носійство жінкою генотипу 455АА гена *FGF* збільшує ризик відшарування хоріону/плаценти в 8 разів. Чи вважаєте Ви, що це є головним чинником у виникненні цієї патології, або припускаєте наявність інших, суміжних факторів?
4. За результатами *HLA* – генотипування 273 подружніх пар зі звичним невиношуванням вагітності, Вами встановлено, що 3-6 гомологічних алелів мала в сукупності 61 пара (22,4%), при цьому хромосомна патологія в матеріалі завмерлих вагітностей зустрічалась в чотири рази частіше у подружніх пар з одним гомологічним алелем, проти пар з чотирма такими алелями. З огляду на це, чи вважаєте Ви достатньо переконливими результати Вашого дослідження для того, щоб застосовувати методи імунокорекції (наприклад, призначення імуноглобулінів, алолімфоцитотерапію тощо) в таких випадках?

Вказані зауваження та питання, що потребували роз'яснення, загалом не впливають на наукове та практичне значення роботи.

Висновок.

Дисертаційна робота Вероніквеляна Миколи Петровича «Дослідження ролі генетичних чинників в етіології та патогенезі репродуктивних розладів на різних етапах внутрішньоутробного розвитку», є фундаментальним закінченим науковим дослідженням, в якому наведено теоретичне узагальнення і нове

розв'язання науково-прикладної проблеми в галузі генетики, що полягає у розробці цілісної концепції медико-генетичного консультування в родинах з порушеннями репродуктивної функції та сприятиме реалізації репродуктивного потенціалу у таких пацієнтів. За своєю актуальністю, обґрунтованістю наукових положень і висновків, обсягом і якістю досліджень, сучасним методичним рівнем, суттєвою новизною та значущістю для науки і практики дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а сам здобувач заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,
член-кор. НАМН України,
доктор медичних наук, професор
заступник директора з наукової роботи,
завідувач відділення ендокринної гінекології
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства
і гінекології НАМН України»




ОСОБИСТИЙ ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ:
Т.Ф.Татарчук
УЧЕНИЙ СЕКРЕТАР ІНСТИТУТУ