

## **ВІДГУК**

офіційного опонента на дисертаційну роботу

**Верлінського Олега Юрійовича**

“ Родинно-специфічний дизайн

попередження моногенної та хромосомної патології людини

у доімплантаційний період”,

поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

**Актуальність теми.** У розвинених країнах світу все гостріше постає проблема демографічної кризи. Адже кількість безплідних пар у середньому становить більше 10%, що викликає занепокоєння медичної спільноти. Офіційною статистикою в Україні зареєстровано майже 45 тисяч випадків жіночого та 12 тисяч чоловічого безпліддя. Отримати здорових нащадків у родинях з порушеннями репродукції та генетичними захворюваннями можливо завдяки розвитку і впровадження високотехнологічних допоміжних репродукційних технологій (ДРТ). Для підвищення результативності технологій ДРТ доцільно формувати свої стратегії преімплантаційного генетичного тестування (ПГТ). Цим зумовлена безперечна актуальність теми обраної дисертаційної роботи. Інтенсивний розвиток ДРТ людини, зумовлює необхідність співпраці та інтеграції генетики, репродуктології, біоетики, теології, культурології, юриспруденції.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами.** У дисертаційній роботі представлено серйозне обґрунтування наукових положень на підставі аналізу результативності молекулярно-генетичних, молекулярно-цитогенетичних і цитогенетичних методів та їхніх комбінацій при визначенні реципрокних транслокацій, інших хромосомних порушень та

генних мутацій у батьків та в межах преімплантаційного генетичного тестування анеуплоїдій, структурних перебудов і моногенних захворювань.

Сформульовані автором 6 чітких та конкретних завдань логічно впливають із поставленої мети. Автором ретельно опрацьована література на тему дисертації, особисто підібрано та використано сучасні генетичні методи досліджень.

**Дисертаційна робота відповідає плану наукових досліджень і є складовою частиною плану науково-дослідної роботи «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин» (номер державної реєстрації 0116U005341, 2016–2019 р.р., № держреєстрації 0119U102493, 2019-2022р.р.) ХНУ імені В. Н. Каразіна.**

**Наукова новизна роботи.** Новизна наукової роботи полягає в тому, що в результаті узагальнення молекулярно-генетичних, молекулярно-цитогенетичних і цитогенетичних методів та їхніх комбінацій на великому за обсягом експериментальному матеріалі було встановлено зіставну інформативність результатів дослідження різних біологічних зразків від батьків обох статей. Визначено особливості та відмінності при дослідженні біологічних зразків жінок та чоловіків. Доведено доцільність дослідження ембріонів на п'яту добу розвитку для визначення їхніх морфологічних, цитогенетичних та молекулярно-генетичних характеристик.

**Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи.** Дисертаційна робота викладена на 112 сторінці тексту, матеріали дисертації ілюстровано 20 таблицями та 23 рисунком. Список використаних джерел налічує більше 218 найменувань. Виклад матеріалу логічно пов'язаний з поставленою метою, висновки, в цілому, відповідають завданням. У дисертації представлені усі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, обговорення результатів, висновки, практичні рекомендації. Власні

результати викладені у трьох розділах. У розділах «Аналіз та узагальнення результатів» та «Висновки» підсумовані отримані результати.

**Відповідність автореферату змісту дисертації.** Автореферат повністю відповідає змісту дисертаційної роботи.

**Повнота огляду та аналізу літератури у напрямі дослідження.** В огляді літератури, який складається з двох основних підрозділів, Верлінський О.Ю. всебічно та критично аналізує сучасну літературу, присвячену питанням преімплантаційного генетичного тестування, порівнянню і особливостям найсучасніших методів (кількісної ПЛР в реальному часі, флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), повногеномної ампліфікації, порівняльної геномної гібридизації (CGH), секвенуванню наступного покоління (NGS), а також критеріям включення / виключення пацієнтів в програмах ПГТ, питанням особливостей національного законодавства і біоетики при проведенні ПГТ. Хочу відмітити, що цей розділ написаний досконало не лише з детальним описанням методів, але й з акцентуванням уваги на генетичних і соціокультурних особливостях кожної сім'ї, з урахуванням правових та етичних положень країни, технологічних можливостей дослідників і попереднього досвіду колег.

**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 хворих. Методи генетичних досліджень адекватно підібрані. Робота виконана на надзвичайно репрезентативному дослідницькому біологічному матеріалі з використанням найсучасніших генетичних методів аналізу. В роботі було застосовано як класичний метод диференційного фарбування препаратів хромосом, так і молекулярно-цитогенетичний метод FISH. Проведено ретроспективний аналіз бази даних щодо 69 носіїв транслокацій і 193 їхніх ембріона, аналіз даних 291 носія транслокацій у

програмах ПГТ-А/СП з родин, які мали різні репродукційні порушення. Для порівняння результативності застосування технологій у ПГТ-А/СП було проаналізовано дані щодо 70 ембріонів, оцінених одночасно молекулярно-цитогенетичними та молекулярно-генетичними методами, та дві групи ембріонів у кількості 287 та 365, генетичні характеристики яких було визначено різними методами. Для аналізу результатів ПГТ моногенних захворювань проаналізовано інформацію про 1149 пацієнтів із родин із моногенними захворюваннями, 4419 ембріони від пацієток, отриманих в понад 2900 циклах. Матеріали щодо одночасного виконання ПГТ-М та ПГТ-А проаналізовано у 83 родин, 1054 ембріонів. При ПГТ-М для дослідження мутацій *de novo* вивчено матеріали щодо 152 родин, 403 ембріонів. При оцінюванні морфологічних характеристик зигот для прогнозування потенціалу ембріону проаналізовано 352 ооцити. Автор використовував адекватні статистичні методи аналізу та програмне забезпечення.

Результати дослідження, які включають 3 основні розділи та підрозділи, представлено в наочній формі, у вигляді таблиць і рисунків, їх проаналізовано та грамотно співставлено з даними світової літератури. Узагальнення отриманих результатів показало, що стратегії дослідження можуть відрізнятися в залежності від типу успадкування мутації, статі носія мутації *de novo*, побажань сім'ї щодо можливості тестування тих чи інших зразків у зв'язку з релігійними або соціальними особливостями. Проте загальний підхід включає ідентифікацію походження мутації *de novo*, пошук можливого гонадного мозаїцизму і відповідних батьківських гаплотипів. Важливим науковим здобутком автора є встановлення існування позитивного зв'язку між показниками еуплоїдності ембріонів за дослідженими хромосомами та середньою кількістю бластомерів саме 5-х добових ембріонів. Робота проілюстрована якісними мікрофотографіями з рідкісними структурними і кількісними перебудовами хромосом, на препаратах, отриманих із використанням різних, в тому числі, найсучасніших методів забарвлення. Це надає роботі неабияку наукову цінність і оригінальність.

**Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях.** Основні положення дисертаційної роботи представлено у 17 наукових працях, із яких 4 статті у престижних виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus, 4 статті у фахових періодичних виданнях зі списку МОН, а також 8 тез доповідей на наукових конференціях. Важливим здобутком дисертанта є видана у співавторстві монографія. Результати досліджень доповідалися та були обговорені на всеукраїнських наукових форумах та конференціях із міжнародною участю. Хоча практичне значення роботи не викликає сумніву, однак, на жаль, автором на підставі отриманих результатів не розроблено методичних рекомендацій, інформаційного листа, або ж патенту. Нововведення мали б вагоме значення для охорони здоров'я, зокрема для репродукційної медицини.

**При рецензуванні дисертаційної роботи виникли деякі побажання, та зауваження.** У загальному одним із зауважень є зловживання скороченнями, що ускладнює сприйняття інформації. Адже є загальноприйняті, якими користуються фахівці у вузьких галузях знань – ДНК, ПЛР, ДРТ, і т.д. Решта бажано писати повністю. Особливо це стосується назв розділів і підрозділів, як у змісті, так і в тексті дисертації, а також у підписах під рисунками (рис. 2,4-2,6) і таблицями. Вважаю задовгими назви деяких розділів, зокрема «1.2 Сучасне бачення концепції преімплантаційного генетичного тестування, рекомендації ESHRE та ASRM, Європейського товариства репродукції та ембріології людини та Американського товариства репродукційної медицини», які можна було б скоротити на «1.2 Сучасне бачення концепції преімплантаційного генетичного тестування та основні рекомендації». У підрозділах розділу «4.1 Визначення генетичних особливостей носіїв транслокацій з родин, що потребують ДРТ», описуються ще й кількісні та якісні характеристики ембріонів. Може доцільно було б у загальній назві підрозділу дисертації вказати на ці характеристики, щоб у чотирьох підрозділах не дублювати

інформацію 4.1.2-4.1.6 (повторюються кількісні і якісні характеристики ембріонів). У назві підрозділу «4.1.7 Оцінка показників відбору проти носіїв транслокацій» потрібно замінити слово «проти» на «стосовно», так як в українській мові слово «проти» має інше змістове навантаження.

У розділі «Матеріали й методи» вважаю недоцільним приводити, як зразок диференціального забарвлення ідіограму з аномальним каріотипом. Метод GTG відомий давно, тому рисунок, на мою думку, зайвий. Адже в дисертації є багато інших цікавих ілюстрацій патологічних станів із використанням найсучасніших методів діагностики.

Стосовно HLA-типування під час преімплантаційного генетичного тестування генних мутацій та анеуплоїдій. У розділі наукова новизна стверджується, що HLA-типування під час преімплантаційного генетичного тестування генних мутацій та анеуплоїдій дає можливість народження здорового HLA-ідентичного донора для лікування осіб з патологіями, що потребують алогенної трансплантації кісткового мозку. Важливий результат, проте в завданнях на цьому здобутку дисертанта чомусь не акцентовано увагу.

У тексті виявлено граматичні та стилістичні помилки, англізми та русизми. Не аутосомно-домінантний тип, а автосомно-домінантний, не алелей, а алелів, не детекція, а виявлення, не гемоглобінпатія, а гемоглобінопатія, не чисельні перебудови, а кількісні. У табл. 5.3 правильно писати не «Групи патологій» (табл. 5.3), а «Досліджені патології», бо вони не є групою.

Також побажанням було б подати кілька рисунків у вигляді схем-узагальнень, що полегшило б сприйняття інформації. Зокрема, хотілося б у вигляді наочної схеми побачити алгоритм проведення етапів доімплантаційного генетичного тестування.

Усі зазначені недоліки та питання, які виникли в процесі рецензування, не впливають на позитивне враження від роботи та не зменшують її теоретичного і практичного значення. Принципових зауважень до роботи немає. У загальному, робота викладена логічно і на високому науковому рівні. Дисертант показав справжню обізнаність у всіх питаннях, що стосувалися теми дисертації.

**При рецензуванні дисертаційної роботи виникли наступні запитання.**

1. Що Ви розумієте під словом дизайн у назві роботи? Це іншомовне слово вживається у Вас, як проект, задум, план, намір, мета, чи інакше?
2. Як можна пояснити неоднаковий розподіл залученості різних хромосом у реципрокні транслокації (деякі практично не беруть участь у виникненні транслокацій, а інші, зокрема, хромосоми 5,2 і 14 – часто)? Які є дані літератури з цього приводу чи, можливо, є припущення, що базуються на Ваших спостереженнях?
3. У таблиці 3.1 «Параметри розвитку ембріонів в залежності від категорії зигот» вказано загальну кількість ембріонів на 5 добу категорії Z1 - 29, хоча з них кількість еуплоїдних ембріонів –1 на 27, категорії Z2 – 44/93 хоча вказано кількість ембріонів на добу 123, категорії Z3 – 21/53, хоча вказано 77, і т.д. У таблиці не пояснено, що означає ця кількість. Як Ви пояснюєте не співпадіння даних?

**Висновок.** Таким чином, дисертаційна робота Верлінського О.Ю. “Родинно-специфічний дизайн попередження моногенної та хромосомної патології людини у доімплантаційний період” є завершеною науково-дослідною роботою, в якій запропоновано шляхи оптимізації доімплантаційного генетичного тестування в сім'ях із різними генетичними, соціокультурними особливостями в залежності від технічних можливостей. Отримані дані є вагомим внеском у фундаментальні дослідження щодо визначення інформативності доімплантаційного генетичного тестування.

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, Верлінський О.Ю., заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика (біологічні науки).

Доктор біологічних наук,  
провідний науковий співробітник  
відділення діагностики спадкової патології  
ДУ «Інститут спадкової патології  
НАМН України»

Лозинська М.Р.

25.08.2021 р.

Підпис доктора біологічних наук, провідного наукового співробітника  
Лозинської М.Р. засвідчую:

Вчений секретар  
доцент, кандидат медичних наук



Ковалів І.Б.