

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Садовниченка Юрія Олександровича

«Генетичне дослідження іхтіозу у Харківській області», подану на здобуття

наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика

Актуальність. Моногенні хвороби є однією з проблем медичної та молекулярної генетики. Інтерес до її вивчення цілком обґрунтований: це велика та різноманітна за клінічними ознаками група захворювань, яка обумовлена мутаціями на генному рівні. Крім того, ці хвороби проявляються в різні періоди онтогенезу, що пов'язане з реалізацією патологічних мутацій. Моногенні хвороби становлять значну частку спадкових патологій і нараховують сьогодні понад 4500 захворювань. У різних країнах вони виявляються у 30-65 дітей у розрахунку на 1000 новонароджених, що складає 3,0-6,5%, а в структурі загальної смертності дітей до 5 років на їх частку припадає 10-14%.

Оцінка тягаря спадкових хвороб як соціально найбільш значущої частини генетичного тягаря популяцій є важливим завданням молекулярної генетики. На величину тягаря генетичної патології населення також впливає рівень інбридингу, тому зіставлення молекулярно-генетичних характеристик генетичної патології з генетико-демографічними параметрами населення кожної області є актуальним, особливо в умовах стабільного зниження аутбредного компонента у сільській місцевості.

В роботі досліджені генодерматози, що характеризуються генералізованим лущенням шкіри, спричинені аномаліями диференціювання епідермісу. Найпоширенішим генодерматозом в усьому світі і, зокрема, в Україні, є іхтіоз. Іхтіози становлять собою групу гетерогенних захворювань шкіри, що викликано спадковим ураженням генів кератинізації. Однак, не зважаючи на значний прорив в розумінні етіології та патогенезу даної патології

на даний час не існує узагальненого специфічного методу лікування та високоефективної терапії.

Тож, визначення, відповідно до мети молекулярно-генетичних особливостей та передумов розвитку Х-зчепленого і звичайного іхтіозу на Харківщині, дослідження структури генетичної патології населення та аналізу зв'язків параметрів поширеності досліджених в роботі патологій з іншими популяційно-генетичними показниками, представлені в роботі Садовниченка Ю. О. «Генетичне дослідження іхтіозу у Харківській області», слід визначити безумовно важливими та актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у рамках науково-дослідної роботи «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин» (номер державної реєстрації 0116U005341, 2016–2019 рр., номер держреєстрації 0119U102493, 2019-2022 рр.) Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

Основні результати, отримані дисертантом, їх наукова новизна. Наукова новизна дисертаційної роботи Ю. О. Садовниченка полягає в тому, що дисертантом, ґрунтуючись на комплексному підході, вперше досліджено молекулярно-цитогенетичні характеристики Х-зчепленого іхтіозу, молекулярно-генетичні особливості звичайного іхтіозу, структуру і поширеність хромосомної патології та зв'язок останньої з іншими популяційно-генетичними параметрами населення районів Харківської області. В результаті роботи встановлено, що Х-зчеплений рецесивний іхтіоз у пробандів зумовлений інтерстиційною делецією гена *STS* ish del(X)(p22.31p22.31)(STS-). Визначено, що серед хворих на звичайний іхтіоз з генотипом 2282del4/N частота гомозигот за алелем 2756A гена *MTR* та алелем 66G гена *MTRR* у 1,4–1,6 рази вища, ніж в осіб з іншими генотипами за геном *FLG*, частота генотипу 2756AA — у 1,6 рази вища, а генотипу 66GG — у 1,8 рази нижча, ніж в осіб з мутацією 2282del4 без клінічних ознак іхтіозу. Серед хворих на іхтіоз,

гетерозиготних за мутацією 2282del4, частота генотипу 2756AA у 1,6 рази вища, а генотипу 66GG — у 1,6 рази нижча, ніж у вибірці осіб з генотипом N/N. Продемонстровано, що генотип *MTHFR* 677CT/*MTHFR* 1298AA/*MTR* 2756AA/*MTRR* 66AG підвищує ризик розвитку іхтіозу в гетерозигот за мутацією 2282del4 гена *FLG* більше ніж у 11 разів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій сформульованих у дисертації. Представлені у дисертації узагальнення та висновки обґрунтовані результатами проведених взаємопов'язаних досліджень і тому носять об'єктивний характер. Для дослідження молекулярно-генетичних/цитогенетичних особливостей іхтіозу у Харківській області та їхнього зв'язку з іншими популяційно-генетичними показниками населення обрано сучасні методи. Автором опрацьована значна кількість літературних джерел та виконано їх коректне порівняння з результатами власних досліджень. Це дозволило досягти логічної узгодженості окремих розділів дисертації та сформулювати обґрунтовані висновки дослідження.

Практичне значення отриманих результатів. Доведено доцільність визначення делеції гена *STS* у хворих на X-зчеплений рецесивний іхтіоз, а також генотипів за однонуклеотидними поліморфізмами C677T, A1298C, A2756G та A66G генів *MTHFR*, *MTRR* та *MTR* для прогнозування розвитку іхтіозу в осіб з груп ризику. Отримані популяційно-генетичні дані щодо структури та поширеності моногенної та хромосомної патології населення районів Харківської області можуть бути використані для моніторингу тягаря генетичної патології у регіоні. Результати дослідження впроваджені в освітній процес кафедри медичної біології Харківського національного медичного університету з дисципліни «Медична біологія»; можуть бути рекомендовані для застосування іншим ЗВО.

Повнота викладення основних результатів досліджень у наукових фахових виданнях. Результати досліджень, представлені в дисертаційній

роботі, повністю викладені в опублікованих роботах. За матеріалами дисертації оприлюднено 21 наукову роботу, з них 8 статей у наукових фахових журналах та 13 тез у збірниках матеріалів міжнародних і всеукраїнських конференцій.

Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи. Дисертаційну роботу побудовано за традиційним типом. Вона викладена на 170 сторінках друкованого тексту, складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів, у яких наведено результати досліджень та їх обговорення, узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 11 таблицями та 18 рисунками. Список використаних джерел містить 337 найменувань.

У **вступі** наведено загальну характеристику роботи, обґрунтовано актуальність теми, сформульовані мета і завдання дослідження. Схарактеризовано наукову новизну та практичне значення отриманих результатів. Вказано на зв'язок роботи з науковими програмами установи, в якій виконувалася дисертація. Наведено апробацію отриманих результатів роботи на вітчизняних та міжнародних конференціях та наявні публікації, відзначено особистий внесок здобувача.

Перший розділ дисертації присвячено викладенню літературних даних щодо молекулярних основ та концепцій патогенезу двох найбільш поширених форм іхтіозу — звичайного та Х-зчепленого рецесивного, визначено місце іхтіозу у структурі генетичної патології людини. Проаналізовано інформацію щодо SNPs генів *MTHFR*, *MTR* та *MTRR*, які контролюють ключові ланки одноуглецевого метаболізму. Представлено молекулярні підходи до популяційних досліджень з використанням показників генетичного поліморфізму та гаплотипної мінливості. Обґрунтовано доцільність поєднання традиційних способів вивчення рівня інбридингу з застосуванням результатів генотипування здорового населення та хворих на генетичні патології.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» наведено відомості щодо об'єктів дослідження та опис молекулярно-генетичних та статистичних методів, що використовувалися у дослідженні. Молекулярно-цитогенетичне дослідження делеції гена *STS* проведено за методом флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), молекулярно-генетичний аналіз поліморфних варіантів генів одноуглецевого метаболізму — методом ПЛР-ПДРФ, популяційно-генетичне дослідження — з визначенням частот алелів та генотипів, їх відповідності закону Харді-Вайнберга, поширеності моногенної і хромосомної патології, коефіцієнту випадкового інбридингу F_{ST} , ступеня нерівноваги за зчепленням.

У третьому розділі викладено результати експериментального дослідження генетичних особливостей Х-зчепленого рецесивного іхтіозу. За результатами молекулярно-цитогенетичного дослідження автором встановлено, що у хворих на Х-зчеплений іхтіоз та їхніх родичів наявна інтерстиційна делеція гена *STS* *ish del(X)(p22.31p22.31)(STS-)*. Показано, що у хворих чоловіків середня кількість нащадків знижена у порівнянні до здорових родичів, а жіноча стать переважає над чоловічою. У жінок-облігатних гетерозигот репродукційні характеристики не порушені.

У четвертому розділі представлено результати дослідження генетичних особливостей звичайного іхтіозу. На основі аналізу даних літератури здобувачем виявлено зв'язки між показниками географічної широти та частотами алелів і генотипів за генами *FLG* та фолатного обміну у країнах Європи. За результатами молекулярно-генетичного аналізу визначено частоти алелів та генотипів за дослідженими поліморфними варіантами генів одноуглецевого метаболізму в хворих на іхтіоз звичайний з різними генотипами за геном *FLG* та їхніх родичів без клінічних ознак іхтіозу, а також особливості їх розподілу у різних групах досліджених осіб. Виявлено генотип за генами фолатного обміну, що викликає найвищий ризик розвитку іхтіозу в

гетерозигот за мутацією 2282del4 гена *FLG*. Визначено блоки зчеплення в осіб з мутаціями гена *FLG*.

У п'ятому розділі подано аналіз популяційно-генетичних характеристик іхтіозу та іншої генетичної патології серед населення районів Харківської області. Автором встановлено спектр та поширеність іхтіозу, моногенної та хромосомної патології на Слобожанщині. Визначено коефіцієнти випадкового інбридингу у регіоні та по типах поселень, а також динаміку протягом семи років. Продемонстровано позитивні зв'язки між показниками випадкового інбридингу та поширеності Х-зчепленого рецесивного іхтіозу, звичайного іхтіозу, аутосомно-рецесивної патології та хромосомної патології серед населення досліджених районів.

Після подачі результатів здобувач наводить **узагальнення**, яке покращує сприйняття роботи.

Висновки відповідають меті і завданням дисертації, і логічно впливають з результатів проведених досліджень.

Список використаних літературних джерел, які були використані здобувачем для побудови завдань та обґрунтування узагальнень дисертаційної роботи містить 337 посилань, переважно англомовних.

Автореферат достатньо повно відображає одержані експериментальні результати і основний зміст роботи та повністю відповідає основним положенням дисертації.

Представлена до захисту дисертаційна робота є оригінальним науковим дослідженням, що розширюють наші уявлення щодо поширеності моногенних захворювань та генетико-демографічні характеристик населення на заході та сході України, і, зокрема, генетичних особливостей іхтіозу у ядрі історико-етнокультурного краю Слобожанщина — Харківській області.

Зауважень, щодо дисертаційної роботи Ю.О. Садовниченка, які б негативно впливали на її оцінку, у мене немає.

Водночас, до дисертаційної роботи можна висловити побажання і запитання.

В роботі здобувача зустрічаються застарілі, раніше широкоживані назви генів, такі як *KALI*, *HDHD1A*, що за даними міжнародної бази генів «Gene» Національного центру біотехнологічної інформації США (NCBI, National Center for Biotechnological Information) мають інші назви, відповідно до протеїнів, які вони кодують: *ANOS1* (anosmin-1) та *PUDP* (pseudouridine 5'-phosphatase) відповідно. Було б логічно використовувати на даний час саме сучасні назви генів з позначенням у дужках класичних назв. Наприклад: *ANOS1* (відомий як *KALI*), *PUDP* (альтернативна назва *HDHD1A*). Це полегшить пошук генів для розуміння їх вкладу у розвиток патології. Можливо з цих причин (застаріла назва) чи внаслідок помилки написання, я не змогла знайти один з генів X-хромосоми, що згадуються у представленій роботі – *ASS*. Можливо ви мали на увазі ген *STS* (альтернативні, раніше вживані назви *ES*; *ASC*; *XLI*; *ARSC*; *SSDD*; *ARSC1*)?

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

Запитання до дисертанта:

- 1) У підрозділі 3.2 Ви наводите дослідження структури родин з X-зчепленим рецесивним іхтіозом. Чи усі проаналізовані хворі чоловіки були репродукційного або пострепродукційного віку?
- 2) Підрозділ 5.2 присвячений вивченню поширеності моногенної та хромосомної патології у регіоні. Які моногенні патології вивчалися на молекулярному рівні на Слобожанщині та в Україні в цілому?
- 3) Як Ви вважаєте, на оцінку тягаря моногенної патології впливатиме удосконалення методів її діагностики?
- 4) Хворі на генетичну патологію у багатьох країнах світу можуть розраховувати на підтримку держави, благодійних фондів та

пацієнтських організацій. Які програми допомоги хворим на них існують в Україні?

Враховуючи наведене вище, вважаю, що дисертаційна робота Садовниченка Юрія Олександровича «Генетичне дослідження іхтіозу у Харківській області» є завершеним дослідженням, яке за актуальністю теми, її теоретичним та практичним обґрунтуванням, обсягом проведених досліджень цілком відповідає чинним вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою кабінету Міністрів України від 24.07.2013р. №567 із змінами, а її автор — Садовниченко Юрій Олександрович — заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика.

Офіційний опонент
завідувач лабораторії біосинтезу
нуклеїнових кислот
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



І. Я. Скрипкіна