

## 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 роботи.* У структурі генодерматозів важливе місце посідають іхтіози, що характеризуються порушеннями диференціювання епідермісу та генералізованим гіперкератозом. Більшість форм іхтіозу належить до орфанних захворювань, окрім звичайного та Х-зчепленого рецесивного. Було показано, що у 80–90% хворих на Х-зчеплений рецесивний іхтіоз визначається делеція гена *STS*, в решти — ще понад 20 точкових мутацій цього гена, однак дані щодо населення України в літературі відсутні. Звичайний іхтіоз спричинений мутаціями гена *FLG*, з яких 2282del4 та R501X є найбільш поширеними у осіб європейського походження. Однак їхня неповна пенетрантність та варіабельна експресивність, особливо у гетерозигот, не виключає залученості інших генів, що впливають на експресію гена *FLG* чи інших генів комплексу епідермального диференціювання. Інтерес до вивчення поліморфізму генів одноуглецевого обміну у хворих на звичайний іхтіоз зумовлений тим, що вони беруть участь у регуляції експресії генів та пов'язані з розвитком низки багатofакторних захворювань, хоча асоціація SNP *MTHFR* C677T з генодерматозами є неоднозначною.

Іхтіози є частиною тягаря спадкових хвороб популяцій людини, спектр і поширеність яких визначається перебігом генетичних процесів у них. Демографічна криза в Україні підвищує ризик зростання рівня інбридингу і відповідного збільшення генетичного тягаря популяцій, особливо у сільській місцевості. Проте дослідження показників інбридингу з використанням фенотипічних та квазігенетичних маркерів дедалі більше обмежується з різних причин, що зумовлює необхідність застосування молекулярно-генетичних даних для їхньої оцінки. Поширеність іхтіозів робить їх перспективними інструментами для визначення рівня інбридингу у популяціях.

У зв'язку з вищенаведеним, не викликає сумніву доцільність поглибленого вивчення реалізації молекулярно-генетичних механізмів розладів у розвитку іхтіозу та їхнього зв'язку з популяційно-генетичними характеристиками. Тому представлену дисертаційну роботу Ю. О. Садовниченка слід вважати актуальною.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.***  
Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «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.).

***Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.***

Дисертаційна робота Ю. О. Садовниченка є комплексним науково-прикладним дослідженням, виконаним на належному методичному рівні.

На користь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, свідчить застосування автором адекватних та сучасних методів дослідження: флуоресцентної гібридизація *in situ* (FISH), екстракції ДНК, ПЛР-ПДРФ-аналізу ДНК, визначення частот алелів та генотипів, їх відповідності закону Харді-Вайнберга, поширеності моногенної і хромосомної патології, коефіцієнту випадкового інбридингу  $F_{ST}$ , ступеня нерівноваги за зчепленням, статистичного аналізу.

Здобувачем чітко окреслено мету та визначено завдання дослідження, обґрунтовано підходи щодо їх виконання.

Мета роботи полягала у визначенні генетичних характеристик іхтіозу серед населення Харківської області. Для цього здобувачем було сформульовано завдання наукового дослідження, які були комплексними, зумовлені поставленою метою та спрямованими на її досягнення, базувалися на принципах системного підходу і потребували від здобувача розробки спеціальної програми дослідження, що передбачала його реалізацію у кілька

організаційних етапів з використанням адекватних методів, на кожному з яких виконувалися взаємопов'язані завдання, що дозволило отримати репрезентативні результати для оцінки об'єкту і предмету дослідження.

Основні висновки роботи, що сформульовані автором дисертації, викладено на підставі результатів власних досліджень.

**Достовірність отриманих результатів.** Достовірність наведених у роботі наукових положень, висновків і рекомендацій підтверджується використанням належної інформаційної бази за темою дисертаційного дослідження, обсягом власних досліджень та вдало застосованим відповідним методологічним апаратом.

На етапі аналізу наукової літератури інформаційну базу дослідження було сформовано з 337 наукових джерел, із них латиницею — 277. Автором проведено патентно-інформаційне дослідження щодо мутацій генів *STS* та *FLG*, поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, тягаря генетичної патології та його зв'язку з популяційно-генетичними характеристиками на регіональному рівні, в Україні, у ближньому зарубіжжі та загалом у світі.

З метою вивчення генетичних характеристик іхтіозу серед населення Харківської області автором проведено дослідження, яке охоплювало 249 хворих на X-зчеплений рецесивний іхтіоз та звичайний іхтіоз, їхніх родичів різного ступеня спорідненості, 662 хворих з генетичною патологією та вродженими вадами розвитку, а також 1582 шлюбні пари.

Статистичну обробку проведено з використанням статистичних модулів програми TIBCO Software Statistica.

Обраний дисертантом дизайн, програма та методологічний апарат дослідження дозволили забезпечити репрезентативність даних, розв'язати поставлені завдання, отримати достовірні результати, які було покладено в основу обґрунтування і розробки нових підходів до діагностики й прогнозування X-зчепленого рецесивного та звичайного іхтіозів, виявлення груп ризику на основі даних молекулярно-цитогенетичного дослідження та генотипування.

**Наукова новизна результатів дисертаційної роботи.** Наукова новизна результатів дисертаційної роботи полягає у тому, що автором вперше серед мешканців Слобожанщини досліджено молекулярно-цитогенетичні особливості X-зчепленого рецесивного іхтіозу, роль однонуклеотидних поліморфізмів A1298C, A2756G та A66G генів *MTHFR*, *MTR* та *MTRR* у розвитку звичайного іхтіозу, а також зв'язок поширеності хромосомної патології з показниками інбридингу у популяції.

Дослідженням встановлено фактори генетичної схильності до розвитку звичайного іхтіозу шляхом оцінки частот алелів та генотипів за поліморфними варіантами генів *MTHFR*, *MTR* та *MTRR* серед хворих на іхтіоз та їхніх родичів. Доведено асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з генотипами: *MTHFR* 677CT/*MTHFR* 1298AA+AC — у 4,4 рази (ДІ 95% 1,47–13,14); *MTHFR* 677CT/*MTR* 2756AA — у 4,2 рази (ДІ 95% 1,50–12,01); *MTHFR* 677CT/*MTHFR* 1298AA/*MTRR* 66AG — у 7,6 рази (ДІ 95% 2,34–24,9); *MTHFR* 677CT/*MTHFR* 1298AA/*MTR* 2756AA/*MTRR* 66AG — у 11,2 рази (ДІ 95% 2,51–50,21).

**Теоретичне значення одержаних результатів дослідження.** Теоретичне значення одержаних результатів дослідження полягає у доповненні теорії молекулярної генетики у частині патогенезу звичайного іхтіозу, зокрема, щодо однонуклеотидних замін C677T та A1298C у гені *MTHFR*, A2756G у гені *MTR* та A66G у гені *MTRR*.

Крім того, наявність позитивного зв'язку між показниками поширеністю X-зчепленого рецесивного іхтіозу і хромосомної патології в цілому та коефіцієнтами випадкового інбридингу автором було пов'язано з підвищенням частоти рекомбінації у цьому регіоні X-хромосоми.

**Практичне значення одержаних результатів.** Практичне значення одержаних результатів полягає у тому, що:

- отримані результати дослідження є підставою для створення якісно нової ефективної моделі виявлення груп ризику X-зчепленого та звичайного іхтіозів на основі даних молекулярно-цитогенетичного дослідження та генотипування;

- встановлено прогностичну значимість показників поширеності моногенної та хромосомної патології населення для моніторингу рівня інбридингу та тягаря генетичної патології у регіоні;

- результати дослідження впроваджені в освітній процес медичного ЗВО.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із анотації, вступу, огляду наукової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, трьох розділів власних досліджень з аналізом отриманих даних, узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, практичних рекомендацій, додатків. Дисертацію викладено на 170 сторінках друкарського тексту, який містить 11 таблиць, 18 рисунків. Бібліографія включає 337 джерел, із них кирилицею — 60, латиницею — 277.

#### ***Характеристика розділів та оцінка змісту дисертації***

У вступі розкрито актуальність теми дисертаційної роботи, представлено її мету та завдання, визначено наукову базу дослідження, об'єкт, предмет і методи дослідження, викладено наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, наведено інформацію про їх апробацію та впровадження, висвітлено особистий внесок автора у виконання роботи, наведено дані про кількість публікацій за темою роботи.

*Перший розділ дисертації*, «Генетична детермінація іхтіозу та його місце у структурі генетичної патології населення (огляд літератури)» викладено автором на основі бібліосемантичного аналізу наукових джерел. В ньому узагальнено міжнародний та вітчизняний досвід у розв'язанні проблем молекулярно-генетичних аспектів Х-зчепленого рецесивного та звичайного іхтіозів, виявлено не розв'язані питання щодо генетичних передумов розвитку цих патологій у хворих з України. У ході проведеного аналізу було визначено структуру тягаря спадкових хвороб у популяціях та провідну роль інбридингу у його формуванні у популяціях людини; виявлено аспекти, які потребують дослідження. Встановлено низку нерозв'язаних питань, окреслено актуальні напрями дослідження, обґрунтовано актуальність та новизну його мети і задач.

В *другому розділі* («Матеріали та методи дослідження») здобувачем описано обсяги, програму, методичний апарат та наукову базу дослідження.

У *третьому розділі* («Генетичні особливості X-зчепленого іхтіозу») автором було вивчено молекулярно-цитогенетичні характеристики X-зчепленого рецесивного іхтіозу у Харківській області. Для цього методом FISH було визначено інтерстиційну делецію гена *STS* у досліджуваній групі пацієнтів з X-зчепленим рецесивним іхтіозом та їхніх матерів, проаналізовано структуру родин з цим захворюванням, зіставлено отриману інформацію з даними літератури. В результаті цієї частини проведеного дослідження дисертантом зроблено відповідні висновки, а також наведено перелік публікацій за матеріалами розділу.

У *четвертому розділі* («Генетичні особливості звичайного іхтіозу у Харківській області») здобувачем викладено результати дослідження ролі генів фолатного обміну у розвитку звичайного іхтіозу шляхом визначення одонуклеотидних замін C677T та A1298C у гені *MTHFR*, A2756G у гені *MTR* та A66G у гені *MTRR*. Для цього на основі даних літератури проведено аналіз широтного розподілу частот алелів і генотипів за генами *FLG* та одновуглецевого метаболізму серед населення країн Європи, методом ПДРФ-ПЛР було проведено генотипування відповідних мутацій, оцінено їх частоти, здійснено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваних групах пацієнтів із звичайним іхтіозом, з'ясовано випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга, здійснено розрахунок співвідношення шансів, визначено нерівновагу за зчепленням, схарактеризовано ризик розвитку іншої патології у носіїв мутацій гена *FLG*, результати зіставлено із даними літератури. Розділ завершено висновками до цієї частини досліджень і переліком публікацій, де відображено його зміст.

У *п'ятому розділі* («Аналіз популяційно-генетичних характеристик іхтіозу та іншої генетичної патології серед населення Харківської області») автором викладено дані дослідження генетико-епідеміологічних параметрів

моногенної та хромосомної патології у регіоні та їхнього зв'язку з факторами популяційної динаміки. Для досягнення мети дисертантом визначено показники поширеності Х-зчепленого рецесивного та звичайного іхтіозів серед населення регіону в цілому, спектр та показники поширеності моногенних та хромосомних хвороб, віку, міграційних характеристик шлюбних пар та коефіцієнту випадкового інбридингу  $F_{ST}$  у чотирьох районах області, а також проведено кореляційний аналіз генетико-епідеміологічних показників генетичної патології з рівнем інбридингу. Розділ завершується висновками і переліком публікацій автора, у яких відображено матеріали розділу.

Загалом, обговорення, узагальнення результатів власних досліджень виконано в повній мірі із аналізом фундаментальних та сучасних робіт інших вітчизняних та зарубіжних авторів.

*Висновки* є обґрунтованими і відображають суть дослідження.

Здобувачем у достатньому обсязі проведено апробацію результатів дослідження на наукових форумах різних рівнів.

***Повнота викладення основних результатів досліджень у наукових фахових виданнях.*** За темою дисертації здобувачем опубліковано 21 друковану роботу, в тому числі 8 статей у наукових фахових журналах та 13 тез доповідей на наукових форумах. Публікації повністю відображають зміст дисертації.

***Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.*** Оцінюючи загалом роботу позитивно, слід звернути увагу на деякі недоліки та упущення.

1. Кількість хворих на іхтіоз, обраних для лабораторних досліджень, видається малою. Чи можна в цьому випадку коректно встановити співвідношення частот досліджуваних генотипів?

2. У розділі «Матеріали та методи досліджень» автор пише «Проаналізовано інформацію щодо 249 хворих на дві основні форми іхтіозу – звичайний та Х-зчеплений рецесивний...». Проте не вказано, скільки саме осіб хворіли на ту чи іншу форму іхтіозу.

3. У тому ж абзаці дисертант також вказує на аналіз 1582 шлюбних пар. Проте не зрозуміло, чи вищевказані 249 хворих належали до цих шлюбних пар, були їх нащадками чи мали іншу родинну спорідненість?

4. Грунтуючись на результатах досліджень, автор дає практичні рекомендації. Проте, практична рекомендація 3: «Для планування родин фахівцям у галузі репродукції людини враховувати молекулярно-генетичні та молекулярно-цитогенетичні особливості іхтіозу» є загальновідомою.

**Висновок по дисертації.** Враховуючи наведене вище, вважаю, що дисертаційна робота Садовниченка Юрія Олександровича на тему: «Генетичне дослідження іхтіозу у Харківській області» є самостійним завершеним дослідженням, виконаним на сучасному науково-методичному рівні. За актуальністю, обсягом отриманого експериментального матеріалу, методичним рівнем, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю наукових положень і висновків, повнотою викладу матеріалів в опублікованих наукових працях і рівнем впровадження дисертаційна робота відповідає вимогам, зазначеним у п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016, № 943 від 20.11.2019 та № 607 від 15.07.2020, та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її автор Садовниченко Ю. О. заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика.

Офіційний опонент  
професор кафедри молекулярної генетики та біотехнології  
Чернівецького національного університету  
імені Юрія Федьковича,  
доктор біологічних наук, професор



І. І. Панчук