



«ПТВЕРЖДАЮ»

Первый проректор

Белорусского государственного университета

Д.М. Курлович

2023 г.

ОТЗЫВ

опионирующей организации на диссертацию

Седляра Никиты Геннадьевича

«Оценка риска невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите. Диссертационная работа Седляра Никиты Геннадьевича посвящена поиску прогностически-значимых ДНК-маркеров риска невынашивания беременности; формированию системного подхода для установления генотипа женщины (с помощью молекулярно-генетических методов) и последующего комплексного расчета риска с учетом вклада отдельных генетических детерминант, и интерпретации полученных числовых значений.

В условиях неблагоприятной демографической ситуации в большинстве развитых стран, в том числе и в Беларуси, проблема невынашивания беременности становится все более актуальной – ежегодно оканчивается неудачно одна из пяти беременностей. Причины потерь беременности различны и могут быть обусловлены как иммунологическими, инфекционными, эндокринными, так и в некоторых случаях генетическими факторами. Важное место среди факторов риска невынашивания беременности занимает носительство тех или иных аллелей генов, ассоциированных с известными нарушениями течения биохимических процессов и в организме матери способствующих прерыванию беременности. Во многих исследованиях показано наличие связи между генетической предрасположенностью к тромбофилии и увеличением риска развития осложнений во время беременности (привычное невынашивание, плацентарная недостаточность, задержка роста плода, поздний токсикоз и другие). Большое значение в формировании генетического риска потери беременности имеет не только носительство отдельных аллелей риска, но и их

комбинаций с аллельными состояниями других генов, отражающее основную суть гипотезы мультифакторной природы патогенеза. В связи с этим очевидна необходимость исследований комплексов генов, что позволит расширить представления о вкладе отдельных генетических детерминант в формировании рисков невынашивания беременности. Изучение и проработка этого вопроса может обеспечить разработку новых подходов к диагностике данной патологии, более корректному определению уровня генетических рисков репродуктивных потерь и подходов к их минимизации.

Целью работы была разработка технологии количественной оценки риска невынашивания беременности, основанной на использовании молекулярно-генетического подхода при генотипировании женщины.

В ходе выполнения работы соискателем:

- на роль наиболее значимых генетических маркеров предрасположенности к невынашиванию беременности предложены полиморфные аллельные варианты следующих генов: $G/T + T/T$ гена *EPO* ($p = 0,03$; $OR = 1,82$), аллели $E4 + E2$ гена *APOE* ($p = 0,02$; $OR = 1,25$) и аллель-*C* гена *ITGB3* ($p = 0,02$; $OR = 1,66$);

- создана уникальная компьютерная программа на языке программирования R в среде RStudio, которая позволила автоматизировать процесс поиска прогностически значимых комплексов генов риска, выявлять наиболее информативные сочетания генов, что существенно повышает эффективность и корректность оценки риска развития невынашивания беременности;

- разработан подход, основанный на балльной системе оценки рисков невынашивания беременности в зависимости от аллельного состояния как отдельных генов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов, так и их отдельных сочетаний (комплексов), который позволяет количественно (с помощью системы баллов) определять уровень риска невынашивания беременности для каждой женщины. Результаты такой оценки являются основанием для проведения медицинскими работниками профилактики и/или терапевтической коррекции возможных осложнений для предотвращения репродуктивных потерь.

Выполнение экспериментальных задач работы потребовало от диссертанта освоения широкого перечня современных методов исследования, используемых для молекулярно-генетического анализа, начиная с этапов выделения нуклеиновых кислот, разработки аллельспецифичных праймеров и зондов, амплификации в режиме реального времени анализируемых полиморфных локусов, и заканчивая

глубокой статистической обработкой полученных результатов, их валидацией и внедрением в медицинскую практику. Таким образом, по совокупности таких признаков, как объект, предмет и методы исследования, рассматриваемая диссертационная работа соответствует области исследования «18. Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных и мультифакториальных заболеваний человека и животных. Генотерапия» специальности 03.01.07 – молекулярная генетика и отрасли науки – биология, по которым она и представлена к защите.

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости.

Работа Седяра Н.Г. вносит существенный вклад в развитие представлений о вкладе как отдельных генетических детерминант, так и их комбинативных сочетаний в невынашивание беременности. Это обеспечивает предпосылки для развития новых подходов к диагностике данной патологии и более корректному определению уровня генетического риска репродуктивных потерь. Для белорусской популяции определены частоты полиморфизмов генов риска преждевременных потерь беременности. Автором впервые дана оценка роли комбинативных сочетаний генов и установлена прогностическая значимость не только отдельных аллелей генов, но и их сочетаний для оценки предрасположенности к невынашиванию беременности. На основании молекулярно-генетических данных, полученных автором, разработана уникальная технология количественной оценки риска невынашивания беременности.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень.

Руководствуясь п. 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, автору диссертационной работы «**Оценка риска невынашивания беременности на основе молекулярно-генетического анализа**» Седяра Н.Г. может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика за новые научно обоснованные результаты исследования, включающие:

- разработку тест-панели для анализа генов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов на роль ДНК-маркеров предрасположенности к нарушению нормального течения физиологического процесса беременности;

- определение в белорусской популяции частот встречаемости аллельных состояний 25 генов, ассоциированных с риском потери беременности;
- разработку подхода для количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности, в котором реализован учет вклада как аллельных состояний отдельных генов, вовлеченных в развитие патологических состояний, так и их комбинативных сочетаний;
- разработку специальной компьютерной программы для автоматизации процесса поиска комплексов прогностически значимых маркеров риска развития невынашивания беременности; выделение комплекса основано на оценке кумулятивного эффекта различных комбинативных сочетаний генов риска, что существенно повышает эффективность и корректность оценки риска развития патологии;
- объединение отдельных генетических детерминант в 11 комплексных маркеров, обладающих большей прогностической ценностью для выявления риска потерь беременности;
- внедрение результатов исследования в медицинскую практику.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.

Диссертационная работа Седяра Н.Г. изложена на 117 страницах и включает введение, общую характеристику работы, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, три главы с результатами исследований и их обсуждением, заключение, библиографический список, два приложения. Материал диссертации изложен грамотно, логично и последовательно. Оформление диссертации и составляющих ее отдельных компонентов, а также автореферата соответствует требованиям Инструкции по оформлению диссертаций. Представление экспериментальных данных сопровождается 20 рисунками и 20 таблицами общим объемом около 33 страниц.

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 статьи, соответствующие пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 3 статьи в других изданиях, 7 тезисов докладов в сборниках материалов конференций, 1 инструкция по применению. Объем публикаций в соответствии с пунктом 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» – 2,4 авторских листа.

Содержание диссертации и автореферата, обзор литературных данных по теме диссертации, выбор исходного экспериментального материала и методов его изучения, спланированный эксперимент, полученные при выполнении работы оригинальные результаты и их подробное обсуждение, достоверность выводов и их соответствие полученным результатам, позволяют судить о высоком уровне научной квалификации и профессиональной компетентности соискателя. Научная значимость полученных результатов, документы, подтверждающие их внедрение в научно-исследовательскую деятельность, учебный процесс и медицинскую практику (Инструкция по применению МЗ РБ, 3 акта внедрения), и апробация результатов диссертации на 4 международных научных конференциях свидетельствуют о квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук.

Высокий научный уровень диссертационной работы, новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов и их качественное оформление дают основание утверждать о соответствии научной квалификации Седляру Н.Г. ученой степени кандидата биологических наук.

Рекомендации по практическому использованию результатов диссертации.

Разработанная на основании полученных результатов и утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь Инструкция по применению «Метод определения вероятности невынашивания беременности» (№176-1220 от 29 декабря 2020 г.) рекомендуется для использования в практической деятельности врачами акушерами-гинекологами, врачами-гематологами и другими врачами-специалистами организаций здравоохранения всех технологических уровней оказания акушерско-гинекологической и перинатальной помощи.

Разработанная уникальная технология количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности используется в работе Республиканского Центра геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси (за период с 09.12.2020 по 06.06.2022 разработано 770 генетических паспортов на общую сумму 270 052 рубля, акт о внедрении результатов НИР от 06 июня 2022 г.), в работе Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» Министерства Здравоохранения РБ (акт внедрения от 30.11.2021 г.) и используются в учебном процессе в ГомГМУ по профилям субординатуры (акушерство и гинекология), дисциплина «Внутренние болезни» (акт от 18 апреля 2022 г.), рекомендуется к дальнейшему использованию в учреждениях МЗ РБ акушерско-гинекологического профиля.

Результаты исследований рекомендуется к дальнейшему использованию в учреждениях МЗ РБ акушерско-гинекологического профиля и могут быть включены в лекционные курсы высших учебных заведений соответствующего профиля для ознакомления обучающихся с современными представлениями о молекулярно-генетическом типировании и технологиями количественной оценки риска невынашивания беременности.

Таким образом, результаты, полученные в ходе выполнения данного диссертационного исследования, могут быть использованы в учреждениях МЗ РБ для проведения профилактических и/или лечебных мер пациенткам с высоким генетическим риском потери беременности, для обеспечения процессов нормального протекания беременности и успешному рождению ребёнка.

В качестве замечаний по работе нужно отметить следующее:

- 1) В «Перечне условных обозначений и сокращений» представлены не все аббревиатуры и обозначения, используемые в работе.
- 2) В Обзоре литературы отсутствует обоснование для выбора конкретного аллельного состояния гена используемого в последующем анализе, не приведены частоты его встречаемости в мировой популяции.
- 3) В главе 2 «Материалы и методы» указаны общие рекомендации для работы в молекулярно-диагностической лаборатории, но не отмечено, выполнялись ли эти рекомендации при выполнении работы (в работе не приведены конкретные сведения о процедурах их выполнения). В работе не описаны методы валидации результатов, оценки размера получаемых продуктов амплификации и параметры их электрофоретического разделения. Автор ограничился описанием методов на уровне «представления» без указания ссылок на источники или лабораторные протоколы;
- 4) В разделе «2.3 Панель генов для генетического тестирования» не приведены критерии, используемые автором для отбора генов при формировании диагностической панели генов.
- 5) Для используемых в работе методов статистической обработки полученных экспериментальных данных и выявления прогностической ценности определенных аллельных состояний (комбинаций) в развитии патогенеза не приведены примеры их расчета (OR), что в ряде случаев затрудняет восприятие приведенной информации. Используемые примеры группового расчета желательно было привести в описании используемого метода.
- 6) Утверждение об превосходстве разработанной технологии над западными

аналогами в диссертационной работе не подтверждено результатами сравнения этих технологий по таким параметрам как: «стоимость», «доступность для населения», «информативность», «эффективность», «трудо-временные затраты» и др.

- 7) В диссертационной работе и автореферате иногда встречаются стилистические неточности и оговорки.

Несмотря на приведенные выше замечания, следует еще раз отметить, что материал диссертации изложен грамотно, логично и последовательно. Работа написана научным языком, опечатки фактически отсутствуют, а сделанные замечания и выявленные стилистические погрешности не касаются основного существа диссертационной работы, носят частный и рекомендательный характер и не снижают общей высокой оценки работы.

Заключение

Диссертационная работа Седяра Никиты Геннадьевича представляет собой завершенное оригинальное и актуальное исследование, основанное на достоверных экспериментальных данных, полученных с использованием комплекса методов, соответствующих мировым стандартам выполнения диагностики с использованием молекулярно-генетического подхода. Диссертационная работа содержит новые научно обоснованные теоретические и экспериментальные данные по определению аллельных состояний как отдельных генов, ассоциированных с повышенным риском невынашивания беременности, так и их комбинативных сочетаний существенно повышающие данные риски. Для белорусской популяции определены распространенность таких аллельных состояний и комплексов генов, определена прогностическая ценность для определения риска невынашивания беременности.

Представленная работа соответствует требованиям, предъявленным ВАК Беларуси к кандидатским диссертациям, а ее автор -- Седяра Н.Г. является высококвалифицированным специалистом в области молекулярной генетики и в соответствии с требованиями п. 19 «Положения ВАК о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий» может претендовать на ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 -- молекулярная генетика за:

- разработку тест-панели для анализа генов систем гемостаза, ангиогенеза, регуляции артериального давления и метаболизма фолатов на роль ДНК-

маркеров предрасположенности к нарушению нормального течения физиологического процесса беременности;

- определение частоты 31 полиморфизма генов-кандидатов риска невынашивания беременности в белорусской популяции;
- разработку уникальной технологии для количественной оценки генетической предрасположенности к невынашиванию беременности, в которой реализован учет вклада как аллельных состояний отдельных генов, вовлеченных в развитие патологических состояний, так и их комбинативных сочетаний (комплексов);
- разработку инструментария для автоматизации процесса поиска комплексов прогностически значимых маркеров риска развития невынашивания беременности; выделение комплекса основано на оценке кумулятивного эффекта различных комбинативных сочетаний генов риска, что существенно повышает эффективность и корректность оценки риска развития патологии;
- внедрение результатов исследования в медицинскую практику.

Таким образом, рассмотрение содержания диссертационной работы и автореферата, анализ примененных в работе методов исследований, детальный анализ и интерпретация литературной информации по теме исследования и близким научным направлениям, анализ и обобщение собственных экспериментальных данных, научная и практическая значимость полученных результатов, их апробация на научных конференциях свидетельствуют о соответствии квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 — молекулярная генетика.

Отзыв составлен на основе всестороннего анализа материалов представленной диссертационной работы, устного доклада соискателя и его ответов на вопросы, одобрен на научно-методическом семинаре биологического факультета (протокол № 5 от 18 января 2023 г.).

Присутствовали 20 сотрудников, в том числе: д.б.н. Максимова Н.П. (03.01.06, 03.02.03, 03.02.07), к.б.н. Веремеенко Е.Г. (03.02.03), к.б.н. Гринев В.В. (14.03.09), к.б.н. Ильюшенок И.И. (03.01.07), к.б.н. Казакевич В.Б. (03.03.01), к.б.н. Каравай Т.В. (03.03.01), к.б.н. Кожуро Ю.И. (03.02.08), к.б.н. Лагодич А.В. (03.01.07), к.б.н. Логвина А.О. (03.01.05), к.б.н. Нестерова О.Л. (03.02.05), к.б.н. Песнякевич А.Г. (03.02.07), к.б.н. Пучкова Т.А. (03.01.07), к.б.н. Романовская Т.В. (14.01.21), к.х.н. Русь О.Б. (03.01.04), к.б.н. Храмова Е.А. (03.01.07), из них специалисты по профилю диссертации: к.б.н. Лагодич А.В. (03.01.07), к.б.н. Ильюшенок (03.01.07), к.б.н. Пучкова Т.А. (03.01.07), к.б.н. Храмова Е.А. (03.01.07).

Решение, принятое открытым голосованием:

«за» — 15 человек

«против» — нет

«воздержалось» — нет

Председатель семинара:

зав. кафедрой генетики

биологического факультета

Белорусского государственного университета,

доктор биологических наук, профессор

Н.П. Максимова

Эксперт:

доцент кафедры генетики

биологического факультета

Белорусского государственного университета,

кандидат биологических наук, доцент

А.В. Лагодич

Секретарь семинара:

доцент кафедры общей экологии

и методики преподавания биологии

биологического факультета

Белорусского государственного университета,

кандидат биологических наук, доцент

О.И. Нестерова

ПОДПИСЬ  УДОСТОВЕРЯЮЩАЯ
Начальник управления
организационной работы и
документационного обеспечения
информации
Н.Б. Черкасова
«20» 01 2019

