

УТВЕРЖДАЮ

директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт
акушерства, гинекологии и
репродуктологии им. Д.О. Отта»,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор
Коган И.Ю.
2025 года



ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» о научно-практической значимости диссертации Деменевой Виктории Вадимовны: «Роль аберрантного метилирования ретротранспозона LINE-1 в этиологии эмбриональной гибели», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 Генетика (медицинские науки)

Актуальность темы выполненной работы

Исследовательская работа Деменевой Виктории Вадимовны посвящена изучению особенностей аберрантного метилирования ретротранспозона LINE-1 при прерывании беременности в первом триместре и поднимает крайне актуальную и социально значимую проблему, в особенности в условиях неблагоприятной демографической ситуации в стране. Кроме того, невынашивание беременности создает серьезный социальный и психологический груз непосредственно для будущих родителей.

Несмотря на значительные достижения в изучении негенетических и генетических причин невынашивания беременности, патогенетические механизмы, приводящие к этой патологии, остаются недостаточно изученными. Анализ метилирования ретротранспозона LINE-1, который играет одну из

ключевых ролей в регуляции экспрессии генов и стабильности генома, может стать важным шагом в понимании молекулярных основ невынашивания.

Автором работы собрана уникальная выборка, включающая случаи спорадического и привычного невынашивания, медицинских аборт, а также абортусов с нормальным кариотипом и хромосомными аномалиями (трисомия 16, моносомия X). Для анализа применены современные молекулярно-генетические, молекулярно-цитогенетические, статистические и биоинформатические методы, что позволяет всесторонне изучить заявленную проблему. В связи с этим диссертационная работа Деменевой Виктории Вадимовны обладает высокой научной ценностью и способствует углублению понимания эпигенетических механизмов невынашивания беременности, открывая перспективы для разработки новых диагностических подходов для оценки качества эмбрионов во вспомогательных репродуктивных технологиях.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

В рамках исследования были сформулированы научные положения, выводы и результаты, основанные на анализе разнообразной выборки образцов абортного материала как с нормальным, так и с аномальным кариотипом от пациентов разных возрастных групп со спорадическим и привычным невынашиваем беременностями, а также после медицинского аборта, что позволило Автору всесторонне изучить проблему участия аберрантного метилирования ретротранспозона LINE-1 в патогенезе невынашивания беременности.

Использован комплекс современных молекулярно-генетических, молекулярно-цитогенетических, статистических и биоинформатических методов, включая детальный сбор анамнестической информации, выделение ДНК и РНК, ПЦР в режиме реального времени для анализа экспрессии генов, потенциально экспрессируемых с антисмысловых протоморов LINE-1, FISH для подтверждения анеуплоидий в анализируемых абортусах, бисульфитное

высокопроизводительное секвенирование для анализа метилирования CpG островков промоторной области LINE-1, а также сложный биоинформатический анализ для исследования подсемейств LINE-1.

Проведенный статистический анализ подтвердил высокую достоверность результатов, что подчеркивает их научную ценность для изучения эпигенетических механизмов, связанных с метилированием ретротранспозона LINE-1, и их роли в патогенезе невынашивания беременности.

Научная новизна

В диссертационной работе Деменевой Виктории Вадимовны впервые был разработан и апробирован метод анализа метилирования ДНК промотора ретротранспозона LINE-1, основанный на подходе массового параллельного секвенирования, что позволило оценить индекс метилирования LINE-1 на большой и репрезентативной выборке ворсин хориона, полученных от пациенток с невынашиванием беременности в первом триместре, и сделать выводы об aberrантном метилировании промотора ретротранспозона LINE-1 при невынашивании беременности.

Также в результате проведенной работы впервые было проанализировано изменение уровня экспрессии генов *NUP153* и *YWHAВ* с антисмысловых промоторов LINE-1 в трофобласте хориона при спонтанном прерывании беременности.

Кроме того, в представленной работе впервые охарактеризовано нарушение метилирования различных подсемейств LINE-1, а также оценено влияние на рассматриваемые эпигенетические модификации возраста партнеров и наличия привычного невынашивания в обследуемых семьях.

Значимость выводов и рекомендаций, полученных в диссертации, для науки и практики

Результаты диссертационной работы Деменевой Виктории Вадимовны не только углубляют научные представления об эпигенетических механизмах, лежащих в основе проблемы невынашивания беременности, но и обладают

высокой практической значимостью, поскольку открывают перспективы для разработки новых подходов к оценке качества эмбрионов при использовании вспомогательных репродуктивных технологий, а также для создания дополнительных диагностических шкал оценки риска репродуктивных потерь.

Фундаментальная значимость работы заключается в выявлении особенностей метилирования промоторной области ретротранспозона LINE-1 в хорионе при неразвивающейся беременности как в случае нормального кариотипа плода, так и при хромосомной патологии, а также в выявлении дифференциальной экспрессии генов с альтернативных промоторов LINE-1, что в значительной степени расширяет представления об эпигенетических механизмах патогенеза неразвивающейся беременности.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Виктории Вадимовны включает 146 страниц печатного текста, содержит 29 рисунков и 12 таблиц. Библиографический указатель состоит из 278 наименований, среди которых 9 отечественных источников и 269 зарубежных источников. Структура работы построена по традиционной схеме: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список публикаций по теме диссертации, список литературы.

В разделе «Введение» описана степень научной разработанности темы диссертационной работы и ее актуальность, изложены поставленные перед исследователем цель и задачи, научная новизна работы, теоретическая и практическая значимость, степень достоверности полученных результатов, указан личный вклад автора, приведены данные о публикациях по теме работы и апробации.

В разделе «Обзор литературы» автор предоставляет данные об известных причинах и механизмах возникновения репродуктивных потерь на раннем сроке беременности, а также об особенностях метилирования в гаметогенезе, на

доимплантационном этапе развития эмбриона и в первом триместре беременности. Подробно описывается роль в онтогенезе человека мобильных элементов, их разновидности, обсуждается вклад ретротранспозона LINE-1 в развитие других заболеваний, а также рассматриваются имеющиеся на сегодня сведения о роли данного мобильного элемента в гаметогенезе и эмбриогенезе.

В разделе «Материалы и методы» автор подробно и последовательно описывает примененные клинические, молекулярно-генетические, молекулярно-цитогенетические, биоинформатические и статистические методы.

Раздел «Результаты и обсуждение» состоит из семи подразделов, включающих обсуждение разработки метода таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования в 19 CpG сайтах промотора LINE-1, оценку индекса метилирования LINE-1 в трофобласте хориона спонтанных абортусов в первом триместре беременности, оценку уровня метилирования различных подсемейств LINE-1 в трофобласте хориона спонтанных абортусов в первом триместре беременности, оценку индекса метилирования LINE-1 в трофобласте хориона спонтанных абортусов в зависимости от возраста родителей, сравнительный анализ уровня метилирования LINE-1 в трофобласте хориона в эмбрионах в семьях с привычным невынашиванием беременности, анализ связи уровня метилирования LINE-1 в ворсинах хориона спонтанных абортусов из одних и тех же семей и анализ экспрессии генов *NUP153* и *YWHAB* с канонических и альтернативных промоторов LINE-1. Все полученные результаты подробно обсуждаются в контексте ранее известных данных, а также высказываются предположения относительно механизмов возникновения описываемых в работе явлений.

Завершают работу «Выводы», которые соответствуют поставленной цели и задачам работы и основываются на полученных результатах.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Результаты диссертационной работы значимы как с позиции расширения теоретических представлений об участии эпигенетических механизмов в патогенезе неразвивающейся беременности на раннем сроке, так и с точки

зрения разработки новых подходов к оценке качества эмбрионов при применении вспомогательных репродуктивных технологий.

Результаты работы Деменевой Виктории Вадимовны могут быть введены в практику генетических и эмбриологических лабораторий, а теоретические данные могут быть использованы при медико-генетическом консультировании, а также при чтении лекционных курсов по эмбриологии и генетике в профильных ВУЗах и НИИ.

Сведения о полноте опубликованных научных работ

Результаты исследования полностью опубликованы в 12 печатных работах соискателя, из которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук. Опубликованные работы являются работами высокого уровня и в полной мере отражают полученные в работе результаты и сделанные выводы.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Деменевой Виктории Вадимовны полностью соответствует основным положениям диссертации. В автореферате отражены актуальность исследования, степень разработанности темы, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, основные положения, выносимые на защиту и полученные результаты.

Общие вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний к структуре и содержанию диссертационной работы нет, однако имеются некоторые вопросы:

1. Был ли проведен в рамках данного исследования анализ определения происхождения X-хромосомы в группе спонтанных абортусов с моносомией X-хромосомы? Может ли материнское или отцовское происхождение X-хромосомы при моносомии X повлиять на изменение индекса метилирования LINE-1?

2. Чем был обусловлен выбор сборки hg19/GRCh37, а не более новой GRCh38/hg38 при проведении биоинформатического анализа?
3. В связи с чем для анализа были отобраны абортусы с трисомией по хромосоме 16 и моносомией по хромосоме X, а также имеются ли результаты аналогичных работ для анеуплоидий по другим хромосомам или структурных аномалий? Если подобных данных нет, не запланировано ли продолжение работы с увеличением размера выборки за счет расширения спектра анализируемых числовых и структурных хромосомных аномалий?

Указанные в отзыве вопросы не снижают научной значимости диссертационного исследования. Рассматриваемая диссертационная работа представляет собой независимое, оригинальное и полноценное научное исследование.

Заключение

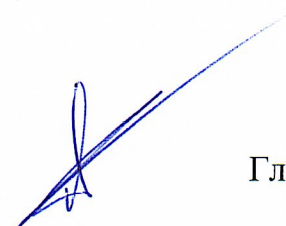
Диссертационная работа Деменевой Виктории Вадимовны на тему: «Роль aberrantного метилирования ретротранспозона LINE-1 в этиологии эмбриональной гибели», выполненная под руководством доктора биологических наук Васильева Станислава Анатольевича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития медицинской генетики.

Диссертационная работа Деменевой Виктории Вадимовны на тему «Роль aberrantного метилирования ретротранспозона LINE-1 в этиологии эмбриональной гибели» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 16.10.2024 г. N 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Отзыв о научно-практической значимости диссертации Деменевой Виктории Вадимовны на тему «Роль aberrantного метилирования

ретротранспозона LINE-1 в этиологии эмбриональной гибели» заслушан, обсужден и одобрен на межлабораторном заседании отдела геномной медицины имени В.С. Баранова и отдела репродуктологии от «15» мая 2025 года (протокол №1), утвержден на заседании Учёного совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» «23» мая 2025 года (протокол №7).

Заведующий отделом геномной
медицины имени В.С. Баранова
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»,
доктор биологических наук


Глотов Андрей Сергеевич

Заведующий отделом репродуктологии
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»,
доктор медицинских наук, профессор


Тапильская Наталья Игоревна

Подпись доктора биологических наук Глотова А.С. и доктора медицинских наук, профессора Тапильской Н.И. заверяю:

Учёный секретарь
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»,
кандидат медицинских наук


Коптеева Екатерина Вадимовна


«23» мая 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

Адрес организации: 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3

Телефон: +7 (812) 679-55-51

Адрес электронной почты: iagmail@ott.ru